

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-536460
(P2019-536460A)

(43) 公表日 令和1年12月19日(2019.12.19)

(51) Int.Cl.	F 1		テーマコード (参考)
C 12 N 5/10 (2006.01)	C 12 N 5/10	Z N A	4 B 0 6 5
A 61 P 43/00 (2006.01)	A 61 P 43/00	1 O 5	4 C 0 8 4
A 61 K 48/00 (2006.01)	A 61 K 48/00		4 C 0 8 5
A 61 K 45/00 (2006.01)	A 61 K 45/00		4 C 0 8 6
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00		4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 130 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-529636 (P2019-529636)	(71) 出願人	516316897 ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 スイート 1200
(86) (22) 出願日	平成29年12月1日 (2017.12.1)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(85) 翻訳文提出日	令和1年7月29日 (2019.7.29)	(74) 代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(86) 國際出願番号	PCT/US2017/064363	(74) 代理人	100160923 弁理士 山口 裕孝
(87) 國際公開番号	W02018/102786	(74) 代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(87) 國際公開日	平成30年6月7日 (2018.6.7)		
(31) 優先権主張番号	62/514,777		
(32) 優先日	平成29年6月2日 (2017.6.2)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	62/580,414		
(32) 優先日	平成29年11月1日 (2017.11.1)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

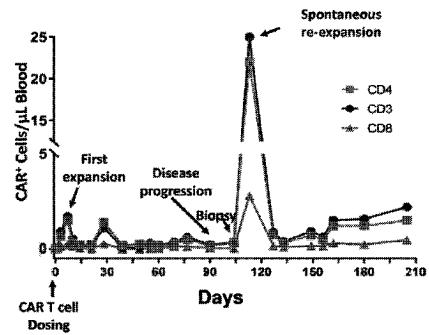
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CAR-T細胞の調節方法

(57) 【要約】

T細胞受容体 (TCR) またはキメラ抗原受容体 (CAR) などの組換え受容体で操作された細胞をインビボで調節する方法が本明細書で提供される。いくつかの態様では、本方法は、前記細胞が存在するかもしくは存在する可能性があるまたは存在したかもしくは存在した可能性がある対象の区域、例えば腫瘍を含む病変を破壊することを含む。いくつかの態様では、破壊により、病変の環境、例えば腫瘍微小環境が変化する。いくつかの態様では、破壊は生検である。いくつかの局面では、提供される方法は、破壊を実施した後、操作された細胞の拡大の増加、およびいくつかの場合には、より堅固で持続的な応答をもたらす。

FIG. 2A



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

疾患または状態を有する対象に治療を行う工程を含む、遺伝子操作された細胞を拡大(expand)するための方法であって、

治療が、免疫調節剤の投与、放射線、または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操作の1つまたは複数を含み、該対象が、疾患または状態を治療するために遺伝子操作された細胞の投与を以前に受けたことがあり、

該対象、病変、および/または該対象の組織もしくは器官もしくは体液中の遺伝子操作された細胞の拡大、ならびに/または病変、組織もしくは器官もしくは体液中の遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす、前記方法。

10

【請求項 2】

遺伝子操作された細胞のその後の投与を含まない、および/または遺伝子操作された細胞のそのようなその後の投与なしに拡大が達成される、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

病変またはその一部において、前記操作された細胞が存在するかもしくは存在する可能性がある、または存在したかもしくは存在した可能性があった、請求項1または2記載の方法。

【請求項 4】

病変が腫瘍である、請求項1~3のいずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

腫瘍が原発性または続発性腫瘍である、請求項4記載の方法。

20

【請求項 6】

病変が骨髄組織であるかまたは骨髄組織を含む、請求項1~5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

治療の時点またはその直前に、前記対象が、遺伝子操作された細胞への応答後、任意で寛解後に再発した、および/または遺伝子操作された細胞の投与に応答しなかった、請求項1、2および4~6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

前記対象が、遺伝子操作された細胞の以前の投与に対する応答後に再発した、および/または該投与に応答しなかった、請求項1~7のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項 9】

前記対象が遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後治療の前に応答しなくなったり、および/または再発した、請求項1~7のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

遺伝子操作された細胞が、前記対象において以前に拡大したことがあるか、または治療前に拡大したことが観察されている、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

治療の時点またはその直前に、

前記対象が寛解期にある、

血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が減少しているかもしくは検出不能である、

前記対象由来の体液もしくは組織もしくは試料、任意で血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、遺伝子操作された細胞の投与後の先行する時点と比較して減少している、ならびに/または

前記対象からの体液もしくは組織もしくは試料、任意で血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の細胞数が、遺伝子操作された細胞の投与の開始後に前記対象の血液中で検出可能なもしくは検出された遺伝子操作細胞のピークもしくは最大数と比較して、および/または遺伝子操作された細胞の投与後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、もしくは14もしくは28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、

40

50

5.0倍、10倍、もしくはそれ以上を超えて減少している、
請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

治療が、遺伝子操作された細胞の投与の開始後、または遺伝子操作された細胞の最後の投薬後、2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、もしくはそれ以上の時点、およそこれらの時点、これらを超える時点、またはおよそこれらを超える時点で行われる、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

治療が、前記対象においてインビボで遺伝子操作されたT細胞の活性または機能を直接的または間接的に調節する、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項14】

治療が免疫調節剤の投与を含む、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

免疫調節剤が、免疫阻害分子であるかもしくはそれを含む、免疫チェックポイント分子もしくは免疫チェックポイント経路のメンバーであるかもしくはそれを含む、および/または免疫チェックポイント分子もしくは経路の調節剤であるかもしくはそれを含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

免疫チェックポイント分子または経路が、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、VISTA、アデノシン受容体、CD73、CD39、アデノシン2A受容体(A2AR)、もしくはアデノシン、または前記のいずれかを含む経路であるかまたはそれを含む、請求項15記載の方法。

20

【請求項17】

免疫調節剤が、BY55、MSB0010718C、イピリムマブ、ダクリズマブ、ベバシズマブ、バシリキシマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ペンプロリズマブ、MPDL3280A、ピジリズマブ、MK-3475、BMS-936559、アテゾリズマブ、トレメリムマブ、IMP321、BMS-986016、LAG525、ウレルマブ、PF-05082566、TRX518、MK-4166、ダセツズマブ、ルカツムマブ、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、アベルマブ、MEDI4736、PDR001、rH IgM12B7、ウロクプルマブ、BKT140、バルリルマブ、ARGX-110、MGA271、リリルマブ、IPH2201、ARGX-115、エマクツズマブ、CC-90002、およびMNR1685A、またはその抗体結合断片である、請求項1～16のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項18】

免疫調節剤が抗PD-L1抗体である、請求項1～17のいずれか一項記載の方法。

【請求項19】

抗PD-L1抗体がMEDI14736、MDPL3280A、BMS-936559、LY3300054、アテゾリズマブ、もしくはアベルマブであるか、またはその抗原結合断片である、請求項1～18のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項20】

免疫調節剤がサリドマイドであるか、またはサリドマイドの誘導体もしくは類似体である、請求項14記載の方法。

40

【請求項21】

免疫調節剤が、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミド、またはレナリドミド、ポマリドミド、アバドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である、請求項14または20記載の方法。

【請求項22】

免疫調節剤が、レナリドミド、レナリドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である、請求項14、20、および21のいずれか一項記載の方法。

【請求項23】

再発後および治療前に、前記対象が、疾患もしくは状態を治療するためのまたは遺伝子

50

操作された細胞の活性を調節するための外因性または組換え作用物質を投与されたことがない、請求項8～22のいずれか一項記載の方法。

【請求項24】

治療が放射線を含む、請求項1～14および23のいずれか一項記載の方法。

【請求項25】

治療が病変またはその一部の物理的または機械的操作を含み、任意で物理的または機械的操作が病変またはその一部の区域を貫通することを含む、請求項1～14および23のいずれか一項記載の方法。

【請求項26】

物理的または機械的操作が生検を含む、請求項25記載の方法。

10

【請求項27】

生検が針またはトロカールによって行われる、請求項26記載の方法。

【請求項28】

生検が切開生検を含む、請求項26または27記載の方法。

【請求項29】

治療の直前の時点と比較して、遺伝子操作された細胞の拡大または遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす、請求項1～28のいずれか一項記載の方法。

【請求項30】

遺伝子操作された細胞の拡大が、治療後24時間、48時間、96時間、7日間、14日間、もしくは28日間以内、またはおよそこれらの期間以内に起こる、請求項1～29のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項31】

拡大が、治療の直前と比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超える、血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞をもたらすか、または

拡大が、治療前の血液中の操作された細胞の事前のピークレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超える、血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞をもたらす、

請求項1～30のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項32】

治療後の時点での血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、

治療前の先行する時点での遺伝子操作された細胞の数と比較して増加している、任意で1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、またはそれ以上増加している、

治療前の前記対象の血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞のピークまたは最大数よりも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、100倍、またはそれ以上多い；

遺伝子操作された細胞の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、もしくは0.1%超または約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、もしくは0.1%超が、そのような細胞の最大レベルのピークが血液中で検出された後の時点で、血液中で検出可能である、

請求項1～31のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項33】

操作された細胞が組換え受容体を発現する、請求項1～32のいずれか一項記載の方法。

【請求項34】

組換え受容体が、疾患もしくは状態に関連するかまたは病変もしくはその一部の細胞において発現される抗原に特異的に結合する、請求項33記載の方法。

【請求項35】

前記抗原が、5T4、8H9、avb6インテグリン、B7-H6、B細胞成熟抗原（BCMA）、CA9、癌精巣抗原、炭酸脱水酵素9（CAIX）、CCL-1、CD19、CD20、CD22、CEA、B型肝炎表面抗原、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、癌胎

50

児性抗原 (CEA) 、CE7、サイクリン、サイクリンA2、c-Met、二重抗原、EGFR、上皮糖タンパク質2 (EPG-2) 、上皮糖タンパク質40 (EPG-40) 、EPHa2、エフリンB2、erb-B2、erb-B3、erb-B4、erbB二量体、EGFR vIII、エストロゲン受容体、胎児AchR、葉酸受容体、葉酸結合タンパク質 (FBP) 、FCRL5、FCRH5、胎児アセチルコリン受容体、G250/CAIX、GD2、GD3、gp100、Her2/neu (受容体チロシンキナーゼerbB2) 、HMW-MAA、IL-22R-1、IL-13受容体2 (IL-13Ra2) 、キナーゼ挿入ドメイン受容体 (kdr) 、軽鎖、ルイスY、L1細胞接着分子 (L1-CAM) 、黒色腫関連抗原 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MART-1、メソテリン、マウスCMV、ムチン1 (MUC1) 、MUC16、NCAM、NKG2D、NKG2Dリガンド、NY-ESO-1、O-アセチル化GD2 (OGD2) 、胎児腫瘍性抗原、黒色腫の優先発現抗原 (PRAME) 、PSCA、プロゲステロン受容体、サバイビン、ROR1、TAG72、tEGFR、VEGF受容体、VEGF-R2、ウィルムス腫瘍1 (WT-1) 、病原体特異的抗原の中から選択される、請求項34記載の方法。
10

【請求項36】

疾患または状態が腫瘍または癌である、請求項1～35のいずれか一項記載の方法。

【請求項37】

疾患または状態が白血病またはリンパ腫である、請求項1～36のいずれか一項記載の方法。

【請求項38】

疾患または状態がB細胞悪性腫瘍である、請求項1～37のいずれか一項記載の方法。

【請求項39】

疾患または状態が、リンパ芽球性白血病 (ALL) 、慢性リンパ芽球性白血病 (CLL) 、急性骨髓性白血病 (AML) 、慢性骨髓性白血病 (CML) 、非ホジキンリンパ腫 (NHL) 、もしくはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL) 、または前記のいずれかのサブタイプである、請求項1～38のいずれか一項記載の方法。
20

【請求項40】

組換え受容体がT細胞受容体または機能的非T細胞受容体である、請求項33～39のいずれか一項記載の方法。

【請求項41】

組換え受容体がキメラ抗原受容体 (CAR) である、請求項34～40のいずれか一項記載の方法。
30

【請求項42】

CARが、抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインと、ITAMを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項41記載の方法。

【請求項43】

抗原がCD19である、請求項34～42のいずれか一項記載の方法。

【請求項44】

細胞内シグナル伝達領域がCD3-ゼータ (CD3-ζ) 鎮の細胞内ドメインを含む、請求項42または43記載の方法。
40

【請求項45】

CARが共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、請求項41～44のいずれか一項記載の方法。

【請求項46】

共刺激シグナル伝達ドメインがCD28または4-1BBのシグナル伝達ドメインを含む、請求項45記載の方法。

【請求項47】

遺伝子操作された細胞がT細胞またはNK細胞を含む、請求項1～46のいずれか一項記載の方法。

【請求項48】

遺伝子操作された細胞がT細胞であり、T細胞がCD4+またはCD8+T細胞である、請求項1～46のいずれか一項記載の方法。
50

【請求項49】

遺伝子操作されたT細胞の治療用細胞が、対象に由来する初代細胞を含む、請求項1～48のいずれか一項記載の方法。

【請求項50】

遺伝子操作された細胞の前記細胞が対象に対して自己由来である、請求項1～49のいずれか一項記載の方法。

【請求項51】

遺伝子操作された細胞の前記細胞が対象に対して同種異系である、請求項1～49のいずれか一項記載の方法。

【請求項52】

対象がヒトである、請求項1～51のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項53】

以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、それぞれ両端の値を含む、 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^8$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、または $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)の用量を含む、請求項1～52のいずれか一項記載の方法。

【請求項54】

以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、 5×10^8 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 1×10^8 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 1×10^7 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 0.5×10^7 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 1×10^6 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、 0.5×10^6 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)である、請求項1～53のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項55】

以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、それぞれ両端の値を含む、対象の体重1kgあたり約 0.25×10^6 細胞/kg～ 5×10^6 細胞/kg、対象の体重1kgあたり約 0.5×10^6 細胞/kg～ 3×10^6 細胞/kg、約 0.75×10^6 細胞/kg～ 2.5×10^6 細胞/kg、または約 1×10^6 細胞/kg～ 2×10^6 細胞/kgの用量を含む、請求項1～54のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項56】

遺伝子操作された細胞の前記用量が、該細胞を含む単一の薬学的組成物において、または一緒に該細胞を含む複数の組成物として投与される、請求項1～55のいずれか一項記載の方法。

【請求項57】

投与される遺伝子操作された細胞が分割用量であり、該用量の細胞が、該用量の細胞を集合的に含む複数の組成物において3日以内の期間にわたって投与される、請求項1～56のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項58】

後続の治療を行う工程を含む前記方法であって、

後続の治療が、免疫調節剤の投与、放射線、または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操作の1つまたは複数を含み、

任意で後続の治療が、対象が先行する治療後の応答の後に再発した後および/または先行する治療後に完全奏効を達成しなかった後に行われる、

請求項1～57のいずれか一項記載の方法。

【請求項59】

対象が、先行する治療後に遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後、後続の治療の前に応答しなくなったおよび/または再発した、請求項58のいずれか一項記載の

50

方法。

【請求項 6 0】

遺伝子操作された細胞が対象において拡大したことがある、または先行する治療の後および後続の治療の前に拡大したことが観察されている、請求項58または59記載の方法。

【請求項 6 1】

後続の治療の時点でまたはその直前に、

対象が寛解期にある、

血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が減少しているかもしくは検出不能である、

対象由来の体液もしくは組織もしくは試料、任意で血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、先行する治療の開始後の先行する時点と比較して減少している、ならびに/または

対象由来の体液もしくは組織もしくは試料、任意で血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の細胞数が、先行する治療の開始後に対象の血液中で検出可能なもしくは検出された遺伝子操作細胞のピークもしくは最大数と比較して、および/または先行する治療の開始後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、もしくは14、もしくは28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍、もしくはそれ以上を超えて減少している、

請求項58～60のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6 2】

治療の非存在下で遺伝子操作された細胞が対象に投与される方法と比較して、遺伝子操作された細胞が対象において拡大および/または持続性の増大または延長を示す、請求項1～61のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6 3】

任意で同じ用量または投与スケジュールで、治療の非存在下で遺伝子操作された細胞が対象に投与される同等の方法および/または遺伝子操作された細胞の非存在下で治療が行われる同等の方法で観察されるであろう減少と比較して、腫瘍量をより大きな程度および/またはより長い期間にわたって減少させる、請求項1～62のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、その内容全体が参照により本明細書に組み入れられる、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する、2016年12月3日に出願された米国仮特許出願第62/429,740号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年1月10日に出願された米国仮特許出願第62/444,784号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年5月1日に出願された米国仮特許出願第62/492,950号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年6月2日に出願された米国仮特許出願第62/514,777号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年6月5日に出願された米国仮特許出願第62/515,512号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年8月23日に出願された米国仮特許出願第62/549,391号、「METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS」と題する2017年11月1日に出願された米国仮特許出願第62/580,414号の優先権を主張する。

【0 0 0 2】

配列表の参照による組み入れ

本出願は、電子形式の配列表と共に提出される。配列表は、34,855キロバイトのサイズの、2017年11月29日に作成された735042009140SeqList.txtと題するファイルとして提供される。配列表の電子形式の情報は、その全体が参照により組み入れられる。

【0 0 0 3】

10

20

30

40

50

分野

本開示は、いくつかの局面では、T細胞受容体（TCR）またはキメラ受容体（CAR）などの組換え受容体で操作された細胞をインビボで調節する方法に関する。いくつかの態様では、方法は、前記細胞が存在するかもしくは存在する可能性が高い対象の区域および/または腫瘍などの病変を破壊すること、ならびに/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操作、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む治療を行うことを含む。いくつかの態様では、破壊および/または治療は、病変の環境、例えば腫瘍微小環境を変化させる。いくつかの態様では、破壊および/または治療は生検である。いくつかの局面では、提供される方法は、破壊および/または治療を実施した後、操作された細胞の拡大（expansion）の増加、およびいくつかの場合は、より堅固で持続的な応答をもたらす。

10

【背景技術】

【0004】

背景

免疫療法、例えばCARのような遺伝子操作された抗原受容体などのT細胞を投与することを含む養子細胞療法の方法のために、様々な戦略が利用可能である。いくつかの局面では、利用可能な方法は完全に満足のいくものではないことがある。養子細胞療法のためのさらなる戦略、例えば投与された細胞の持続性、活性および/もしくは増殖ならびに応答を増強するための戦略、ならびに細胞を調節するための戦略が必要とされている。そのような必要を満たす方法が提供される。

20

【発明の概要】

【0005】

概要

遺伝子操作された細胞が存在するか存在する可能性がある、もしくは存在したか存在した可能性がある対象の区域の破壊を行うこと、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操作、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む治療を行うことを含み、前記対象は、疾患または状態を治療するために遺伝子操作された細胞の投与を以前に受けたことがある、遺伝子操作された細胞を拡大させるための方法が本明細書で提供され、この方法は、対象、区域、および/または対象の組織もしくは器官もしくは体液における操作された細胞の拡大、ならびに/または区域、組織もしくは器官もしくは体液中の操作された細胞の数の増加をもたらす。特定の態様では、区域は病変もしくはその一部であるかまたはそれを含む。いくつかの態様では、病変は腫瘍である。特定の態様では、腫瘍は原発性または続発性腫瘍である。特定の態様では、区域は骨髄組織であるかまたはそれを含む。特定の態様では、区域は病変もしくはその一部であるかまたはそれを含む。

30

【0006】

そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療の時点でまたはその直前に、対象は、遺伝子操作された細胞の投与に応答した寛解後に再発した。そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療の時点でまたはその直前に：対象は寛解期にある；血液中で検出可能な操作された細胞の数は減少しているかまたは検出不能である；対象由来の体液もしくは組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な操作された細胞の数は、操作された細胞の投与後の先行する時点と比較して減少している；ならびに/または対象由来の体液もしくは組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な操作された細胞の数は、操作された細胞の投与の開始後の対象の血液中で検出可能なもしくは検出された操作された細胞のピークもしくは最大数と比較して、および/または細胞の投与後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14もしくは28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍、またはそれ以上を超えて減少している。

40

【0007】

そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療は、遺伝子操作された細胞の投与の開始後または遺伝子操作された細胞の最後の投与後2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、

50

4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年またはそれ以上の時点、またはおよそこれらの時点、またはこれらを超える時点、またはおよそこれらを超える時点で行われる。そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療は、免疫調節剤の投与、放射線または区域もしくは病変の物理的もしくは機械的操作の1つまたは複数を含む。

【0008】

そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療は、免疫調節剤の投与を含む。特定の態様では、免疫調節剤は、免疫阻害分子であるかもしくはそれを含む、免疫チェックポイント分子もしくは免疫チェックポイント経路のメンバーであるかもしくはそれを含む、および/または免疫チェックポイント分子もしくは経路の調節剤であるかもしくはそれを含む。特定の態様では、免疫チェックポイント分子または経路は、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、VISTA、アデノシン受容体、CD73、CD39、アデノシン2A受容体(A2AR)、もしくはアデノシン、または前記のいずれかを含む経路であるかまたはそれを含む。特定の態様では、免疫調節剤はサリドマイドであるか、またはサリドマイドの誘導体もしくは類似体である。特定の態様では、免疫調節剤は、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミド、またはレナリドミド、ポマリドミド、アバドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である。特定の態様では、免疫調節剤は、レナリドミド、レナリドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である。

10

【0009】

そのような態様のいくつかでは、再発後ならびに破壊および/または治療の前に、対象は、疾患もしくは状態を治療するためまたは操作された細胞の活性を調節するための外因性または組換え作用物質を投与されたことがない。そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療は放射線を含む。そのような態様のいくつかでは、破壊および/または治療は、区域または病変の物理的または機械的操作を含み、任意で区域または病変を探査する、突き刺すまたは貫通することを含む。いくつかの態様では、物理的または機械的操作は生検を含む。特定の態様では、生検は針またはトロカールによって行われる。特定の態様では、生検は切開生検を含む。

20

【0010】

そのような態様のいくつかでは、本発明の方法は、破壊および/または治療の直前の時点と比較して、遺伝子操作された細胞の拡大または遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす。特定の態様では、細胞の拡大は、破壊および/または治療後24時間、48時間、96時間、7日間、14日間または28日間以内またはおよそこれらの期間以内に起こる。特定の態様では、拡大は、破壊および/または治療の直前と比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超える、血液中で検出可能な操作された細胞をもたらすか、または拡大は、破壊および/または治療前の血液中の操作された細胞の事前のピークレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超える、血液中で検出可能な操作された細胞をもたらす。特定の態様では、破壊および/または治療後の時点での血液中で検出可能な操作された細胞の数は、破壊および/または治療前の先行する時点での操作された細胞の数と比較して増加している(例えば1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、またはそれ以上の増加)；破壊および/または治療前の対象の血液中で検出可能な操作された細胞のピークまたは最大数よりも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、100倍、またはそれ以上を超える；操作された細胞の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、もしくは0.1%超または約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、もしくは0.1%超が、そのような細胞の最大レベルのピークが血液中で検出された後の時点で、血液中で検出可能である。

30

【0011】

40

50

そのような態様のいくつかでは、操作された細胞は、疾患もしくは障害に関連するかまたは環境もしくは病変の細胞において発現される抗原に特異的に結合する組換え受容体を発現する。そのような態様のいくつかでは、疾患または状態は腫瘍または癌である。そのような態様のいくつかでは、疾患または状態は白血病またはリンパ腫である。そのような態様のいくつかでは、疾患または状態は、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ球性白血病（ALL）または慢性リンパ性白血病（CLL）である。そのような態様のいくつかでは、組換え受容体は、T細胞受容体または機能的非T細胞受容体である。そのような態様のいくつかでは、組換え受容体はキメラ抗原受容体（CAR）である。

【0012】

いくつかの態様では、CARは、抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインおよびTAMを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。特定の態様では、抗原はCD19である。特定の態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3-ゼータ（CD3 ζ ）鎖の細胞内ドメインを含む。いくつかの態様では、CARは共刺激シグナル伝達領域をさらに含む。特定の態様では、共刺激シグナル伝達ドメインは、CD28または4-1BBのシグナル伝達ドメインを含む。特定の態様では、操作された細胞はCD4 $+$ またはCD8 $+$ T細胞である。そのような態様のいくつかでは、操作された細胞は対象に対して自己由来である。

10

【0013】

そのような態様のいくつかでは、操作された細胞は対象に対して同種異系である。そのような態様のいくつかでは、投与される操作された細胞は、それぞれ両端の値を含む、約 0.25×10^6 細胞/kg～ 5×10^6 細胞/kg対象体重、 0.5×10^6 細胞/kg～ 3×10^6 細胞/kg対象体重、約 0.75×10^6 細胞/kg～ 2.5×10^6 細胞/kg、または約 1×10^6 細胞/kg～ 2×10^6 細胞/kgである。そのような態様のいくつかでは、操作された細胞は、細胞を含む単一の薬学的組成物中で投与される。そのような態様のいくつかでは、投与される操作された細胞は分割用量であり、用量の細胞は、3日間以下の期間にわたって用量の細胞を集合的に含む複数の組成物で投与される。

20

【0014】

治療レジメンを対象に投与することを含む治療の方法が本明細書で提供され、ここで、対象は、疾患または状態を治療するために遺伝子操作された細胞を以前に投与されたことがあり、この方法は、対象、区域、および/または対象の組織もしくは器官もしくは体液における操作された細胞の拡大、ならびに/または区域、組織もしくは器官もしくは体液中の操作された細胞の数の増加をもたらす。

30

【0015】

特定の態様では、治療レジメンは、操作された細胞が存在する、存在するかもしくは存在したことが疑われる、または存在する可能性がある対象の区域の破壊を含み、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操業、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む。特定の態様では、治療レジメンおよび/または方法は、遺伝子操作された細胞のまたは前記遺伝子操作された細胞のその後の投与を含まず、および/またはそのようなその後の投与なしに拡大が達成される。いくつかの態様では、治療レジメンは治療用量以下の用量で投与され、および/または遺伝子操作された細胞の拡大を介してその治療効果を引き出す。特定の態様では、対象は、遺伝子操作された細胞の以前の投与に対する応答の後に再発した、および/または投与に応答しなかった。いくつかの態様では、対象は、遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後応答しなくなったおよび/または再発した。

40

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1A】図1Aは、最良総合効果によって分類した対象について、注入後のある時点で測定した末梢血中のCD3 $+$ /CAR $+$ T細胞の数を示す。

【図1B】図1B～1Dは、3ヶ月での持続的効果によって分類した、応答を達成した対象について、注入後のある時点で測定した末梢血中のCD3 $+$ /CAR $+$ T細胞、CD4 $+$ /CAR $+$ T細胞、およびCD8 $+$ /CAR $+$ T細胞レベルを示す。

50

【図1C】図1B～1Dは、3ヶ月での持続的効果によって分類した、応答を達成した対象について、注入後のある時点での末梢血中のCD3⁺/CAR⁺T細胞、CD4⁺/CAR⁺T細胞、およびCD8⁺/CAR⁺T細胞レベルを示す。

【図1D】図1B～1Dは、3ヶ月での持続的効果によって分類した、応答を達成した対象について、注入後のある時点での末梢血中のCD3⁺/CAR⁺T細胞、CD4⁺/CAR⁺T細胞、およびCD8⁺/CAR⁺T細胞レベルを示す。

【図2A】図2Aは、ある時点で測定した化学療法抵抗性形質転換DLBCLを有する対象の末梢血中のCD3⁺/CAR⁺、CD4⁺/CAR⁺、CD8⁺/CAR⁺T細胞の数を示す。

【図2B】図2Bは、右中頭蓋窩における頭蓋内異常および右後耳介領域の皮下組織における広範な異常を示す治療前の軸方向PET-CT画像を示す。

【図2C】図2Cは、抗CD19 CAR⁺T細胞による治療後の、図2Bにおける異常の消散を示す治療後のPET-CT画像である。

【図2D】図2Dは、右中頭蓋窩において均一に増強する腫瘍を示す治療前の脳MRI（造影剤を用いた高分解能T₁強調画像；軸方向図）である。

【図2E】図2Eは、増強する腫瘍のほぼ完全な消失を示す治療後のMRI画像である。

【図2F】図2Fは、¹⁸F-フルオロデオキシグルコースの強い取り込み（矢印）に関連した右後耳介腫瘍の再発を示す、再発時の軸方向PET-CT画像である。

【図2G】図2Gは、切開生検およびCAR⁺T細胞の再拡大後の後耳介腫瘍の消失を示すPET-CT画像である。

【図3】図3は、20%以上の対象において発生した、臨床検査値異常および治療中に発生した有害事象（TEAE）を経験した対象の割合を示す。*：試験治療とは無関係な、リンパ腫の進行に起因する多臓器不全のグレード5AEの1例；†：増殖因子および広域スペクトル抗生物質および抗真菌剤の下で好中球減少症であるが、進行性呼吸不全のための機械的換気を拒否した対象において23日目に発生した、治験責任医師がフルダラビン、シクロホスファミド、およびCAR⁺T細胞療法に関連すると評価したびまん性肺胞損傷のグレード5AEの1例。

【図4】図4は、観察されたCRSおよび神経毒性の発症までの時間を示すカプランマイヤー曲線である。

【図5A】図5Aおよび図5Bは、治療された対象のサブグループ間の奏効率を示す。

【図5B】図5Aおよび図5Bは、治療された対象のサブグループ間の奏効率を示す。

【図6A】図6Aおよび図6Bは、対象の全コホートおよびコアコホートにおける奏効期間（CR/PR、CRまたはPR）および全生存期間を示す。

【図6B】図6Aおよび図6Bは、対象の全コホートおよびコアコホートにおける奏効期間（CR/PR、CRまたはPR）および全生存期間を示す。

【図7A】図7Aは、異なる用量レベルでの治療後の様々な時点における末梢血中のCAR⁺T細胞の薬物動態を示す。

【図7B】図7Bは、奏効者と非奏効者との間の治療後の様々な時点における末梢血中のCAR⁺T細胞の薬物動態を示す。

【図7C】図7Cは、神経毒性を発症したまたは発症しなかった対象における治療後の様々な時点での末梢血中のCAR⁺T細胞の薬物動態を示す。

【図8】図8は、CAR⁺T細胞の投与前の対象の血清中で測定した分析物のレベルおよび神経毒性の発生との相関を示す。

【図9】図9は、無増悪期間（月数）をプロットし、CAR-T発現CD4⁺およびCD8⁺T細胞を含む抗CD19細胞療法で治療されたNHL対象の全コホートおよびコアコホート内の個々の対象における最良総合効果および効果の持続性、ならびに経時的に観察された個々の臨床転帰を表すグラフを示す。^a：特に断りがある場合を除き、1ヶ月目にBORを達成した患者；^b：2名の患者で観察されたリンパ腫によるCNS関与の完全な消散；^c：疾患の進行時の生検後に再拡大した1名の患者。

【発明を実施するための形態】

【0017】

10

20

30

40

50

発明の詳細な説明

I. 養子細胞療法における遺伝子操作された細胞の調節

対象に投与された遺伝子操作細胞の拡大、増殖、および/または活性化を促進する、増強するまたは増大させることなどの、遺伝子操作された細胞をインビボで調節する方法が本明細書で提供される。いくつかの態様では、組換え受容体発現細胞（例えばCAR+T細胞）などの遺伝子操作された細胞を対象に投与した後、提供される方法は、遺伝子操作された細胞が存在するかもしくは存在する可能性が高い対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域などの対象の区域またはその領域もしくは一部を破壊すること、例えば操作すること、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操作、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む治療を行うことを含む。いくつかの態様では、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域、またはその領域もしくは一部）は、遺伝子操作された細胞によって認識される抗原発現細胞を含むことが既知であるかまたは疑われる。特に、対象の他の区域または領域と比べて、標的部区域は、その区域が対象の他の区域と比べてまたは比較して、より高いまたはより多い濃度または抗原の量または抗原特異的細胞の数を有することが既知であるかまたは疑われるものである。

【0018】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変の環境、例えば腫瘍微小環境を改変するなどの、区域の環境を改変する。いくつかの場合には、改変は、遺伝子操作されたT細胞の活性を直接的または間接的に調節するようなものである。いくつかの局面では、改変は、組換え受容体発現細胞（例えばCAR+T細胞）のような以前に投与された遺伝子操作細胞のインビボでの再活性化、拡大および/または増殖を促進するのに十分である。

【0019】

養子T細胞療法などのT細胞ベースの療法（キメラ抗原受容体（CAR）および/または他の組換え抗原受容体などの関心対象の疾患または障害に特異的なキメラ受容体を発現する細胞、ならびに他の養子免疫細胞および養子T細胞療法の投与を含むものを包含する）は、癌ならびに他の疾患および障害の治療において有効であり得る。ある状況では、養子細胞療法に対する利用可能なアプローチは、必ずしも完全に満足のいくものではないことがある。いくつかの状況では、最適な効果は、投与された細胞が、標的、例えば標的抗原を認識して結合し、対象、腫瘍、およびその環境内の適切な部位に輸送し、局在させ、成功裏に進入する能力に依存し得る。いくつかの状況では、最適な効果は、投与された細胞が活性化する、拡大する、細胞傷害性死滅およびサイトカインなどの様々な因子の分泌を含む様々なエフェクター機能を発揮する、長期を含めて持続する、特定の表現型状態（長期記憶、低分化状態、およびエフェクター状態など）に分化、移行、またはそれへのリプログラミングに関与する、疾患の局所微小環境における免疫抑制状態を回避または低減する、標的リガンドまたは抗原のクリアランスおよびそれへの再曝露後に有効で堅固なリコール応答を提供する、ならびに枯渇、アネルギー、末梢寛容、最終分化、および/または抑制状態への分化を回避または低減する能力に依存し得る。

【0020】

いくつかの局面では、免疫療法、例えばT細胞療法の効果は、疾患または障害の局所微小環境、例えばTMEにおける免疫抑制活性または存在する因子によって制限され得る。いくつかの局面では、TMEは、T細胞療法のために投与されたT細胞の活性、機能、増殖、生存および/または持続性を抑制することができる因子または状態を含むかまたはそれを生成する。

【0021】

いくつかの態様では、操作された細胞の曝露および持続性は、対象への投与後に減少または低下する。それにもかかわらず、所見は、いくつかの場合には、投与された組換え受容体を発現する細胞への対象の曝露の増加（例えば細胞数の増加または期間の延長）は、養子細胞療法における効果および治療転帰を改善し得る。複数の臨床試験において様々なCD19発現癌を有する対象に種々のCD19標的CAR発現T細胞を投与した後に行われた予備分析は、CAR発現細胞へのより高いおよび/またはより長い程度の曝露と治療転帰との間の相関

10

20

30

40

50

関係を明らかにした。そのような転帰は、重度のまたは著しい腫瘍量を有する個人においてさえも、患者の生存および寛解を含んだ。いくつかの局面では、提供された方法によって観察された安全性プロフィールは、提供された治療用T細胞組成物および疾患または状態を治療するための別の療法、例えばチェックポイントアンタゴニストなどの免疫調節剤を含む併用療法の望ましくない安全性懸念のリスクを低減し得る。

【0022】

遺伝子操作されたT細胞を投与された対象において、病変を破壊すること、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む治療を行うことは、対象が再発した後でも、対象における細胞の実質的な拡大をもたらし得ることが本明細書で見出される。細胞が存在するかまたは存在する可能性が高い対象の区域を破壊する、例えば操作する、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的、放射線または免疫調節剤の投与の1つまたは複数を含む治療を行う方法が本明細書で提供される。いくつかの態様では、区域は、腫瘍または癌などの病変である。いくつかの態様では、破壊および/または治療は、病変部もしくはその付近、例えば腫瘍もしくはその付近、または病変に関連する微小環境、例えば腫瘍微小環境 (TME) もしくはその付近における機械的または物理的改変によって行うことができる。いくつかの態様では、破壊および/または治療は、薬理学的作用物質または治療薬、例えば免疫調節剤、またはT細胞または病変もしくは病変の微小環境に関連する1つもしくは複数の細胞の活性を調節することができる他の作用物質の投与によって行うことができる。いくつかの場合には、薬理学的作用物質は、病変の部位を標的とする、または病変の細胞、例えば腫瘍微小環境の細胞に特異的に結合する治療薬である。いくつかの態様では、機械的破壊による、または免疫調節剤などの薬理学的作用物質の投与などによる破壊および/または治療は、組換え受容体発現T細胞、例えばCAR+T細胞の投与の開始の1週間、2ヶ月、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、2年後もしくはそれ以上より後にまたはおよそこれらの期間より後に行われる。

10

20

30

40

50

【0023】

いくつかの態様では、薬理学的作用物質または治療薬の投与などの破壊および/または治療の時点またはその直前に、対象は、治療後の寛解の後に再発した。

【0024】

A. 病変

提供される方法の局面では、操作された細胞が存在するか存在する可能性がある、または存在したか存在した可能性がある対象の区域は、病変または病変の一部である。いくつかの局面では、病変は、投与される組換え受容体発現細胞によって認識される抗原発現細胞を含むことが既知であるかまたは疑われるものである。提供される方法は、病変を破壊するため、および/またはインビボで遺伝子操作された細胞を調節するように対象を治療するために行われる。

【0025】

いくつかの態様では、病変は、傷害または疾患による損傷を被った器官または組織の任意の領域を含む。特定の態様では、病変は、傷害または疾患による構造の異常な変化を受けたおよび/または受けている器官または組織の任意の領域である。いくつかの態様では、病変は限局性であり、明確に定義されている。いくつかの態様では、病変は非癌性である。特定の態様では、病変は非腫瘍性である。特定の態様では、病変は癌性であるか、または癌性であることが疑われる。特定の態様では、病変は腫瘍である。

【0026】

いくつかの態様では、病変は、器官または組織に認められる病変である。特定の態様では、病変は、結合組織、筋肉組織、神経組織、または上皮組織に存在する。特定の態様では、病変は、心臓、血管系、唾液腺、食道、胃、肝臓、胆嚢、脾臓、腸、結腸、直腸、視床下部、下垂体、松果体、甲状腺、副甲状腺、副腎、腎臓、尿管、膀胱、尿道、リンパ系、皮膚、筋肉、脳、脊髄、神経、卵巣、子宮、精巣、前立腺、咽頭、喉頭、気管、気管支、肺、横隔膜、骨、軟骨、靭帯、または腱に存在する。

【0027】

特定の態様では、病変は以下から選択される：軟部組織における病変、例えばモレル-ラバリー病変、バンカート病変、ペルセス病変、ステナー病変、またはSLAP病変；骨病変、例えば骨化性線維腫、ALPSA病変、またはヒル-サックス病変；皮膚病変、例えば色素性母斑、スキップ病変、またはオスラー結節；膿漏性角皮症、黒色丘疹性皮膚病、白血病性皮疹、ジェーンウェイ病変、カポジ肉腫、扁平母斑、または慢性瘢痕角化症；消化管病変、例えばデュラフォイ病変またはキャメロン病変；内胚葉性病変、例えば色素性口腔病変、子宮内膜上皮内腫瘍；ゴーン病巣、良性リンパ上皮性病変、多発性硬化症病変、熱帯性潰瘍、またはヘルペス性ひょうそなどの別の病変。

【0028】

特定の態様では、病変は腫瘍または新生物である。特定の態様では、腫瘍は良性である。特定の態様では、腫瘍は、前癌性もしくは癌性であるか、または癌性もしくは前癌性であることが疑われる。特定の態様では、腫瘍は原発性腫瘍であり、すなわち、腫瘍は、病変が最初に発症または出現した解剖学的部位に見出される。いくつかの態様では、腫瘍は、続発性腫瘍、例えば身体の異なる部位内に位置する原発性腫瘍内の細胞に由来する癌性腫瘍である。

【0029】

いくつかの態様では、病変は、B細胞悪性腫瘍または血液悪性腫瘍である癌または増殖性疾患に関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われる。いくつかの態様では、癌または増殖性疾患は、リンパ芽球性白血病（ALL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、または慢性リンパ性白血病（CLL）である。いくつかの態様では、癌はCLLである。いくつかの態様では、病変は、骨髄腫、リンパ腫または白血病に関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われる。いくつかの態様では、病変は、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ性白血病（CLL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、急性骨髄性白血病（AML）、または骨髄腫、例えば多発性骨髄腫（MM）に関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われる。いくつかの態様では、病変は、MMまたはDBCBLに関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われる。

【0030】

特定の態様では、病変は、非血液癌に関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われ、例えば病変は圆形腫瘍である。いくつかの態様では、病変は、膀胱癌、肺癌、脳の癌、黒色腫（例えば小細胞肺癌、黒色腫）、乳癌、子宮頸癌、卵巣癌、結腸直腸癌、膵臓癌、子宮内膜癌、食道癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、皮膚癌、甲状腺癌、または子宮癌に関連するか、それによって引き起こされるか、またはそれに関連するもしくはそれによって引き起こされることが疑われる。いくつかの態様では、病変は、膵臓癌、膀胱癌、結腸直腸癌、乳癌、前立腺癌、腎臓癌、肝細胞癌、肺癌、卵巣癌、子宮頸癌、膵臓癌、直腸癌、甲状腺癌、子宮癌、胃癌、食道癌、頭頸部癌、黒色腫、神経内分泌癌、CNS癌、脳腫瘍、骨癌、または軟部組織肉腫に関連するかまたはそれによって引き起こされる。

【0031】

特定の態様では、病変は、少なくとも1つの癌細胞を含む、または含むことが疑われる腫瘍である。いくつかの態様では、病変は、AIDS関連癌、乳癌、消化管/胃腸管の癌、肛門癌、虫垂癌、胆管癌、結腸癌、結腸直腸癌、食道癌、胆嚢癌、膵島細胞腫瘍、膵神経内分泌腫瘍、肝臓癌、膵臓癌、直腸癌、小腸癌、胃癌、内分泌系癌、副腎皮質癌、副甲状腺癌、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、甲状腺癌、眼の癌、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、膀胱癌、腎臓（腎細胞）癌、陰茎癌、前立腺癌、腎孟および尿管の移行上皮癌、精巣癌、尿道癌、ウィルムス腫瘍または他の小児腎臓腫瘍、胚細胞癌、中枢神経系癌、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、婦人科癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、妊娠性絨毛腫瘍

10

20

30

40

50

、卵巣上皮癌、子宮肉腫、腫瘍、外陰癌、頭頸部癌、下咽頭癌、喉頭癌、口唇口腔癌、転移性扁平上皮性頸部癌、鼻咽頭癌、口咽頭癌、副鼻腔癌、咽頭癌、唾液腺癌、咽喉癌、筋骨格癌、骨癌、ユーリング肉腫、消化管間質性腫瘍 (GIST) 、骨肉腫、骨の悪性線維性組織球腫、横紋筋肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、神経癌、脳腫瘍、星状細胞腫、脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚性腫瘍、中枢神経系胚細胞腫瘍、頭蓋咽頭腫、上衣腫、髄芽腫、脊髄腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍および松果体芽腫、神経芽腫、呼吸器癌、胸部癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、悪性中皮腫、胸腺腫、胸腺癌、皮膚癌、カボジ肉腫、黒色腫、またはメルケル細胞癌に由来する癌細胞を含む、または含むことが疑われる腫瘍である。

【0032】

10

B. 病変の治療および/または破壊

インビオで遺伝子操作された細胞を調節するために、例えば対象に投与された遺伝子操作細胞の拡大を促進する、増強する、または増大させるために、病変、例えば腫瘍の治療および/または破壊を行う方法が本明細書で提供される。いくつかの態様では、治療および/または破壊には、機械的破壊、例えば生検、放射線、例えば体外照射療法による治療および/または破壊、および/または薬理学的破壊、例えば免疫調節剤による治療が含まれる。

【0033】

20

いくつかの態様では、病変の治療および/または破壊は、組換え受容体発現T細胞、例えばCAR + T細胞などの操作されたT細胞を、病変に関連する微小環境を改変することなどによって、直接的または間接的に改変する任意の操作、手順、または治療である。いくつかの態様では、操作、手順、または治療は、機械的破壊、例えば生検である。特定の態様では、操作、手順、または治療は、病変を有する対象への薬理学的作用物質の投与である。特定の態様では、操作、手順、または治療は、病変への放射線の照射である。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、少なくとも最初にまたは直ちに、病変内の細胞数を減少させる。

【0034】

30

特定の態様では、病変の治療および/または破壊は、操作された細胞、例えばCARを発現する細胞が存在するかまたは存在する可能性が高い対象の区域の破壊を含む。いくつかの態様では、病変の破壊は、遺伝子操作された細胞がかつて存在した区域または遺伝子操作された細胞が存在した可能性がある区域を破壊することを含む。

【0035】

40

特定の態様では、病変は、インビオで遺伝子操作された細胞を調節するために治療および/または破壊され、ここで治療および/または破壊は、病変または病変に関連する微小環境、例えば腫瘍微小環境 (TME) の改変であるかまたはそれをもたらす。いくつかの態様では、改変は、微小環境の少なくとも1つの成分の修飾、変化、置換、または変換を含み得る。特定の態様では、改変は、治療および/または破壊が行われる前の病変または微小環境と比較した、病変または微小環境の修飾、変化、置換、または変換を指す。特定の態様では、改変とは、治療および/または破壊を受けなかった類似の病変、例えば同じ種類、例えば腫瘍型の病変、または同じ腫瘍型の微小環境と比較した、病変または微小環境の修飾、変化、置換、または変換を指す。特定の態様では、類似の病変は異なる対象に存在する。特定の態様では、類似の病変は、治療されたおよび/または破壊された病変と同じ対象に存在する。

【0036】

50

いくつかの態様では、微小環境の成分は、病変内またはその周囲の細胞、例えば癌細胞、非病変細胞、ならびに微小環境内の細胞によって分泌、放出、および/または発現される分子、例えばシグナル伝達分子を含む。非病変細胞は、病変の細胞ではないが末梢または病変内に含まれる細胞を含み得る。非病変細胞は、免疫細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、血管内皮細胞、周皮細胞、およびリンパ管内皮細胞を含み得るが、これらに限定されるわけではない。シグナル伝達分子は、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子、ならびに炎症

性およびマトリックスリモデリング酵素を含み得るが、これらに限定されるわけではない。

【0037】

特定の態様では、治療および/または破壊は、少なくとも当初または一定期間にわたって、病変の微小環境内の細胞数、または少なくとも1つの細胞型の細胞数を減少させる操作、手順、または治療である。特定の態様では、病変は腫瘍であり、操作、手順、または治療は、病変内の腫瘍細胞の数を減少させる。特定の態様では、病変は癌性であり、操作、手順、または治療は、病変内の癌細胞の数を減少させる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変の微小環境内にある非病変細胞の数を減少させる操作、手順、または治療である。病変の微小環境内に見られる非病変細胞としては、微小環境内にある免疫細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、血管内皮細胞、周皮細胞、および/またはリンパ管内皮細胞が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。特定の態様では、治療および/または破壊は、腫瘍の微小環境内の免疫細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、血管内皮細胞、周皮細胞、および/またはリンパ管内皮細胞の数の増加をもたらす操作、手順、または治療である。

10

【0038】

特定の態様では、治療および/または破壊は、少なくとも当初または一定期間にわたって、病変の細胞を除去するかまたは死滅させる操作、手順、または治療である。いくつかの態様では、病変は腫瘍であり、操作、手順、または治療は、少なくとも当初または一定期間にわたって、病変内の腫瘍細胞を死滅させるかまたは除去する。特定の態様では、病変は癌性であり、操作、手順、または治療は、病変内の癌細胞を死滅させるかまたは除去する。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変の細胞の少なくとも約0.001%、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.1%、少なくとも約1%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または少なくとも約99.9%を死滅させるかまたは除去する。

20

【0039】

特定の態様では、治療および/または破壊は、病変の微小環境における1つまたは複数の種類の免疫細胞の数の変化をもたらす操作、手順、または治療である。微小環境中に見られる免疫細胞の種類は、Tリンパ球、Bリンパ球、ナチュラルキラー細胞（NK細胞）、ナチュラルキラーティ細胞（NKT細胞）、マクロファージ、例えば腫瘍関連マクロファージ、骨髄由来サブレッサー細胞（MDSC）、樹状細胞、および好中球、例えば腫瘍関連好中球（TAN）を含み得るが、これらに限定されるわけではない。特定の態様では、治療および/または破壊は、病変の微小環境におけるCD8⁺細胞、細胞傷害性記憶CD8⁺T細胞（CD8⁺CD45RO⁺）、CD4⁺Tヘルパー1（T_H1）細胞、CD4⁺Tヘルパー2（T_H2）細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、ナチュラルキラーティ（NKT）細胞、および/またはTリンパ球の数を増加させる操作、手順または治療である。特定の態様では、治療および/または破壊は、病変の微小環境におけるTH2細胞、CD4⁺Tヘルパー17（T_H17）細胞、免疫抑制性制御性T細胞（Treg）、制御性B細胞（Breg）、B10細胞および/または腫瘍関連マクロファージ（TAM）の数を減少させる操作、手順、または治療である。

30

【0040】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変および/または病変の微小環境に存在する1つまたは複数のシグナル伝達分子の数を増加させる操作、手順、または治療である。いくつかの態様では、シグナル伝達分子は、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子、ならびに炎症性およびマトリックスリモデリング酵素を含み得るが、これらに限定されるわけではない。特定の態様では、操作、手順、または治療は、インターロイキン-2（IL-2）、インターロイキン-17A（IL-17A）、インターロイキン-17F（IL-17F）、インターロ

40

50

イキン-21 (IL-21)、インターロイキン22 (IL-22)、および/またはインターフェロンガンマ (IFN-) の量を増加させる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変および/または病変の微小環境に存在するシグナル伝達分子の量を少なくとも約1%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約1倍、少なくとも約1.5倍、少なくとも約2倍、少なくとも約2.5倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍、少なくとも約200倍、少なくとも約500倍、または少なくとも約1,000倍増加させる操作、手順、または治療である。

【0041】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変および/または病変の微小環境に存在する1つまたは複数のシグナル伝達分子の数を減少させる操作、手順、または治療である。特定の態様では、操作、手順、または治療は、インターロイキン 4 (IL-4)、インターロイキン 5 (IL-5)、インターロイキン 10 (IL-10)、インターロイキン 13 (IL-13)、インターロイキン-17A (IL-17A)、インターロイキン-17F (IL-17F)、インターロイキン-21 (IL-21)、インターロイキン22 (IL-22)、トランスフォーミング増殖因子 (TGF-)、血管内皮増殖因子 (VEGF)、エンドセリン-1、エンドセリン-2、エンドセリン-3、内皮单球活性化ポリペプチドII (EMAP2、AIMP1としても知られる)、肝細胞増殖因子 (HGF)、線維芽細胞増殖因子 (FGF)、インスリン様成長因子1 (IGF1)、インスリン様成長因子2 (IGF2)、TGF- 、C-X-Cモチーフケモカイン12 (CXCL12)、血小板由来増殖因子 (PDGF)、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) および/またはカテプシン、例えばカテプシンLの量を減少させる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変および/または病変の微小環境におけるシグナル伝達分子の量を少なくとも約1%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.9%、または約100%減少させる操作、手順、または治療である。

【0042】

1. 機械的破壊

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、例えば病変を探査する、突き刺す、または貫通することによる、病変などの区域の物理的または機械的 operation を含む。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、病変 (例えば腫瘍) の生検などの、区域の生検によって行われる。いくつかの態様では、生検は針を用いて行われる。いくつかの態様では、生検は切開生検である。

【0043】

いくつかの態様では、病変は、インビオで遺伝子操作された細胞を調節するために、例えば対象に投与された遺伝子操作細胞の拡大を促進する、増強する、または増大させるために、生検手順を用いて物理的および/または機械的に破壊される。いくつかの態様では、生検手順は細針吸引であり、それによって、病変に挿入することができる長くて細い針および注射器を用いて病変から細胞および/または体液を取り出す。特定の態様では、生検はコア針生検であり、それによって、切断端を有するより太い針を用いて病変から組織柱を取り出す。特定の態様では、生検は真空補助下生検であり、それによって、吸引装置を使用して針を通して抽出される体液および/または細胞の量を増やす。特定の態様では、生検は画像誘導下生検であり、それによって、医療提供者、例えば医師が病変を視覚化

10

20

30

40

50

し、生検器具、例えば針を腫瘍に誘導することを可能にするX線、超音波、CTスキャン、またはMRIスキャンを含むがこれらに限定されるわけではない画像化技術を用いて病変が視覚化される。

【0044】

特定の態様では、病変は、インビトロで遺伝子操作された細胞を調節するために1つまたは複数の生検器具（例えば針）で破壊される。いくつかの態様では、生検器具はコア針である。特定の態様では、生検器具は細針吸引に使用し得る針である。特定の態様では、生検器具はトロカールである。

【0045】

特定の態様では、生検器具はコア針である。いくつかの態様では、コア針は、10ゲージ、11ゲージ、12ゲージ、13ゲージ、14ゲージ、15ゲージ、16ゲージ、17ゲージ、18ゲージ、19ゲージ、20ゲージ、21ゲージ、22ゲージ、23ゲージ、24ゲージ、25ゲージ、または26ゲージである。特定の態様では、コア針は、10ゲージ～30ゲージ、10ゲージ～24ゲージ、または14ゲージ～20ゲージである。特定の態様では、針は、約10cm、約11cm、約12cm、約13cm、約14cm、約15cm、約16cm、約17cm、約18cm、約19cm、約20cm、約21cm、約22cm、約23cm、約24cm、約25cm、約26cm、約27cm、約28cm、約29cm、約30cm、約31cm、または約32cmの長さである。いくつかの態様では、コア針は、約5cm～約30cm、約10cm～約25cm、または約10cm～約20cmの長さである。特定の態様では、コア針は14ゲージ～20ゲージであり、長さが約10cm～20cmである。特定の態様では、コア針は使い捨てである。特定の態様では、コア針は再利用可能である。

10

20

30

40

【0046】

いくつかの態様では、病変は、細針吸引によって破壊される。特定の態様では、針は細針である。いくつかの態様では、細針吸引に使用し得る針は、20ゲージ、21ゲージ、22ゲージ、23ゲージ、24ゲージ、25ゲージ、26ゲージ、27ゲージ、28ゲージ、29ゲージ、30ゲージ、31ゲージ、または32ゲージである。特定の態様では、針は、20ゲージ～30ゲージ、22ゲージ～28ゲージ、20ゲージ～26ゲージ、または約24ゲージ～約28ゲージである。特定の態様では、針は細針吸引に使用することができ、約1cm、約2cm、約3cm、約4cm、約5cm、約6cm、約7cm、約8cm、約9cm、約10cm、約12cm、約14cm、約16cm、約18cm、または約20cmの長さである。いくつかの態様では、針は細針吸引に使用することができ、約1cm～約10cm、約5cm～約10cm、または約1cm～約5cmである。特定の態様では、針は細針吸引に使用することができ、22ゲージ～28ゲージおよび1cm～10cmの長さである。

【0047】

いくつかの態様では、病変は、インビトロで遺伝子操作された細胞を調節するためにトロカールまたはトロカールを補助的に用いて破壊される。トロカールは、例えば腹腔鏡下手術技術のために、例えば体腔、例えば腹膜腔に進入し、アクセスを確保するために一般的に使用される。従来のトロカールは、例えばシール、鋭いトロカール、カニューレ、およびトロカールが腹壁を貫通した後に器官を保護するための安全シールドを含み得る。安全シールドは一般に、トロカール先端部がカニューレ内に挿入されたときには荷重されて作動する機械装置として設計される。トロカールの先端部は安全シールドによって保護されている。トロカールが腹壁の層を通過すると、安全シールドが引っ込められ、トロカールの鋭い先端部を露出させる。装置が最終的に腹部組織の最後の層を貫通したとき、および腹部の開放空間に入る直前に、安全シールドは再び前方に移動してトロカール先端部を覆う。

30

40

【0048】

トロカールの例には、ブレード付き先端部を含むブレード付きトロカール、および鈍いトロカールが含まれる。最も一般的に使用されてきたブレード付きトロカール先端部のタイプは三角錐形デザインであり、これは、組織、例えば腹壁の組織を突き通すことができる3つの鋭い縁によって組織への侵入を容易にする。ブレード付きトロカールには、ハイブリッド先端部を有するトロカールも含まれる。ハイブリッド先端部は、トロカールの鈍い構成要素によって拡張される切開部を作り出すための、より小さい先導線形ブレードを

50

有する。鈍いトロカールは、ブレード付き先端部なしで腔に進入するように設計されている。鈍いトロカールには放射状に拡張するトロカールが含まれ、これらは、異なる器具、例えばメスで小さな切開部が作られると組織に進入するように設計されている。いくつかの態様では、病変は、ブレード付きトロカールで、または補助的にそれを用いて破壊される。特定の態様では、病変は、鈍いトロカールで、または補助的にそれを用いて破壊される。

【0049】

いくつかの態様では、病変は、少なくともまたは約1mm、約2mm、約3mm、約4mm、約5mm、約6mm、約7mm、約8mm、約9mm、約10mm、約11mm、約12mm、約13mm、約14mm、約15mm、約16mm、約17mm、約18mm、約19mm、または約20mmの直径のトロカールで破壊される。特定の態様では、トロカールは、約1mm～約20mm、約1mm～約15mm、約5mm～約15mm、約10mm～約15mm、または約5mm～約12mmの直径を有する。特定の態様では、トロカールは約5mm～約12mmの直径を有する。

10

【0050】

特定の態様では、病変は、インビボで操作された細胞を調節するためにパンチ生検で破壊される。いくつかの態様では、パンチ生検は、円筒状のコア組織試料、例えば皮膚試料を収集するために組織を通って下方へと回転することができる円形ブレードを用いて行われる。特定の態様では、パンチは、少なくともまたは約0.1mm、約0.5mm、約1mm、約2mm、約3mm、約4mm、約5mm、約6mm、約7mm、約8mm、約9mm、約10mm、約11mm、約12mm、約13mm、約14mm、約15mm、約16mm、約17mm、約18mm、約19mm、または約20mmの直径を有する。特定の態様では、パンチは、約1mm～約8mmの直径を有する。

20

【0051】

いくつかの態様では、病変は切除生検で破壊される。特定の態様では、切除生検は病変の全部または大部分の除去を含む。特定の態様では、切除生検は、病変の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.5%、少なくとも約99.9%、または約100%の除去を含む。

【0052】

特定の態様では、病変は切開生検で破壊される。特定の態様では、切開生検は病変の少なくとも一部の除去を含む。特定の態様では、切開生検は、病変の少なくとも約0.01%、少なくとも約0.1%、少なくとも約1%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%の除去を含む。特定の態様では、切開生検は、病変の約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、約10%未満、約5%未満、約1%未満、約0.5%未満、または約0.1%未満の除去を含む。

30

【0053】

いくつかの態様では、病変は、外科用器具、例えば、トロカール、ナイフ、または針を用いて病変を突き刺す、突く、切断する、切り裂く、貫く、開放する、切り目を付ける、削り落とすおよび/または切片化することによって破壊される。特定の態様では、病変部の突き刺し、突き、切断、切り裂き、貫き、開放、切り目付け、削り落とし、および/または切片化は、病変部の損傷をもたらす。例えば、いくつかの態様では、損傷は、穿刺、穿孔、スライス、スリット、または裂け目を含む。いくつかの態様では、病変の破壊は、0.001mm未満、0.01mm未満、0.1mm未満、0.2mm未満、0.3mm未満、0.4mm未満、0.5mm未満、0.6mm未満、0.7mm未満、0.8mm未満、0.9mm未満、1mm未満、1.1mm未満、1.2mm未満、1.3mm未満、1.4mm未満、1.5mm未満、1.6mm未満、1.7mm未満、1.8mm未満、1.9mm未満、2mm未満、2.5mm未満、3mm未満、4mm未満、5mm未満、6mm未満、7mm未満、8mm未満、9mm未満、1cm未満、2cm未満、3cm未満、4cm未満、5cm未満、6cm未満、7cm未満、8cm未満、9cm未満、もしくは10cm未満、または約0.001mm、約0.01mm、約0.1mm、約0.2mm、約0.3mm、約0.4mm、約0.5mm、約0.6mm、約0.7mm、約0.8mm、約0.9mm、約1mm、約1.1mm、約1.2mm、約1.3mm、

40

50

約1.4mm、約1.5mm、約1.6mm、約1.7mm、約1.8mm、約1.9mm、約2mm、約2.5mm、約3mm、約4mm、約5mm、約6mm、約7mm、約8mm、約9mm、約1cm、約2cm、約3cm、約4cm、約5cm、約6cm、約7cm、約8cm、約9cm、もしくは約10cmの穿刺、穿孔、スライス、スリット、または裂け目を含む、病変への損傷をもたらす。いくつかの態様では、穿刺、穿孔、切片、スリット、または裂け目は約10cmまたはそれ以上である。特定の態様では、病変は、外科用器具を用いて病変を突き刺す、突く、切斷する、切り裂く、貫く、開放する、切り目を付ける、削り落とすおよび/または切片化することによって破壊され、その結果、約0.001mm～約0.1mm、約0.1mm～約1mm、約1mm～約1cm、または約1cm～約10cmの病変への穿刺、穿孔、スライス、スリット、または裂け目を生じさせる。

【0054】

10

いくつかの態様では、機械的破壊は、病変の温度を変えること、例えば温熱療法によって行われる。特定の態様では、機械的破壊は凍結融解壊死療法である。特定の態様では、機械的破壊は温熱療法である。

【0055】

特定の態様では、病変は凍結融解壊死療法によって破壊される。凍結融解壊死療法は、新生物塊を凍結し、細胞内および細胞外の氷晶の沈着を導くこと、細胞膜、タンパク質および細胞小器官を破壊すること、ならびに高浸透圧環境を誘導し、それによって細胞死を引き起こすことを含む。凍結融解壊死療法に有用な方法および装置は、Murphy et al, *Scand. Urol. Oncol.* 29:133-140 (2001) ならびに米国特許第6,383,181号、同第6,383,180号、同第5,993,444号、同第5,654,279号、同第5,437,673号、および同第5,147,355号に記載されている。

20

【0056】

特定の態様では、病変は温熱療法で破壊される。温熱療法は、典型的には新生物塊の温度を約42℃から約44℃の範囲に上昇させることを含む。病変の温度はこの範囲を超えてさらに上昇する場合もある；；しかしながら、そのような温度は、周囲の健康な組織への損傷を増加させ得る一方で、治療されるべき病変内の細胞死の増加を生じさせない。当業者に公知の任意の手段による温熱療法で、腫瘍を加熱してもよい。いくつかの態様では、マイクロ波、高密度集束超音波、強磁性サーモシード、局所電流場、赤外線、湿式または乾式高周波アブレーション、レーザー光凝固術、レーザー間質温熱療法、および電気焼灼法によって、病変を加熱してもよい。マイクロ波および電波は、導波管アプリケータ、ホーン、スパイラル、電流シート、および小型アプリケータによって発生させることができる。

30

【0057】

病変、例えば腫瘍の温度を上昇させるための他の方法、装置、および組成物は、Wust et al, *Lancet Oncol.* 3:487-97 (2002) に総説されており、米国特許第6,470,217号、同第6,379,347号、同第6,165,440号、同第6,163,726号、同第6,099,554号、同第6,009,351号、同第5,776,175号、同第5,707,401号、同第5,658,234号、同第5,620,479号、同第5,549,639号、および同第5,523,058号に記載されている。

【0058】

40

2. 照射による治療および/または破壊

特定の態様では、病変は、インビオで遺伝子操作された細胞を調節するために、照射による治療、または放射線療法によって治療および/または破壊される。特定の態様では、放射線療法は、病変、例えば腫瘍を縮小し、病変内の細胞、例えば癌細胞を死滅させるために高エネルギー放射線を使用する。いくつかの態様では、病変は、電離放射線、すなわち電離（電子の獲得または損失）を生じさせるために、十分なエネルギーを有するかまたは核相互作用によって十分なエネルギーを発生することができる粒子または光子を含む放射線で治療および/または破壊される。いくつかの態様では、病変は、病変をX線、ガンマ線、荷電粒子、例えば電子、または癌治療に使用し得る他の任意の種類の放射線に曝露することによって治療および/または破壊される。

【0059】

50

放射線療法は、電離放射線療法、近接照射療法、密封線源放射線療法、全身放射性同位体療法、非密封線源放射線療法、放射性核種療法、体外照射療法、放射線手術、荷電粒子線療法、中性子線療法、X線療法、ガンマ線療法、およびコバルト療法を含むがこれらに限定されるわけではない、癌および/または関連疾患の治療に使用される治療用放射線の任意の線源を含み得る。

【0060】

特定の態様では、病変は、電離放射線の外部線源が病変を含む対象の身体の領域で対象に適用される、外部ビーム療法(EBT)で治療および/または破壊される。いくつかの態様では、EBTは、皮膚上に存在する病変を治療および/または破壊するための常用電圧(すなわち表在)放射線ビームを含む。特定の態様では、EBTは、メガ電圧、例えば深部放射線ビームを含み、内部病変、例えば膀胱、腸、前立腺、肺、または脳の病変を治療するために使用される。特定の態様では、EBTで病変を治療および/または破壊することは、X線、ガンマ線、電子線、陽子線、またはイオン化核ビームを病変に送達することを含む。いくつかの態様では、病変は、線形加速器、コリメータ、コバルト装置、表在放射線療法(SRT)装置、常用電圧X線装置を用いて行われるEBTによって治療および/または破壊される。

10

【0061】

いくつかの態様では、病変は、内部放射線療法、すなわち近接照射療法で治療および/または破壊される。特定の態様では、近接照射療法は、病変の区域またはその近くに放射線源を適用することを含む。特定の態様では、近接照射療法は、放射線源が小さなペレット、シード、ワイヤ、チューブ、および/または容器中に含まれ、直接病変内にまたは病変に隣接して配置される間質放射線を含む。特定の態様では、近接照射療法は、放射性物質の容器が体腔、例えば胸腔または大腸に配置される、腔内放射線を含む。いくつかの態様では、放射線源の配置を補助するために超音波、X線、および/またはCTスキャンが使用される。

20

【0062】

いくつかの態様では、病変は、小さな容器、例えば米粒程度の大きさの容器を病変内に配置することを含む、永続的近接照射療法で治療および/または破壊される。いくつかの態様では、容器は数週間または数ヶ月間放射線を放出し、放射線が使い果たされた後、その場に残される。

30

【0063】

特定の態様では、病変は、治療される区域にシリンダー、中空針、チューブ(カテーテル)、および/または流体充填バルーンを配置し、治療後に回収することを含む、一時的近接照射療法で治療および/または破壊される。いくつかの態様では、放射性物質をこれらの容器に短時間入れ、その後取り出す。いくつかの態様では、一時的近接照射療法は高線量率(HDR)近接照射療法であり得、放射線源は病変部またはその近くに一度に数分間配置され、その後除去される。この工程は、最大1週間まで1日2回、または数週間にわたり1週間に1回反復され得る。いくつかの態様では、一時的近接照射療法は低線量率(LDR)近接照射療法であり、放射線源は、除去されるまで最大7日間その場にとどまる。

【0064】

いくつかの態様では、病変は全身放射線療法によって治療および/または破壊される。いくつかの態様では、全身放射線療法は、血液中を移動して病変の細胞を死滅させる、放射性ヨウ素などの放射性物質を投与することを含む。放射性核種療法で投与され得る代表的な放射性同位元素としては、リン32、イットリウム90、ジスプロシウム165、インジウム111、ストロンチウム89、サマリウム153、レニウム186、ヨウ素131、ヨウ素125、ルチウム177、およびビスマス213が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。これらの放射性同位元素のすべてが標的とする特異性を提供する生体分子に結合され得るが、ヨウ素131、インジウム111、リン32、サマリウム153、およびレニウム186は、そのような結合なしに全身投与され得る。当業者は、その新生物に存在する細胞表面分子に基づいて、放射性核種療法のために特定の新生物を標的とする際に使用するための特定の生体分子を選択し得る。いくつかの態様では、放射性粒子は、病変の細胞に結合するモノクローナ

40

50

ル抗体、またはその活性断片もしくは変異体に連結される。放射性医薬品の例には、イットリウム90またはインジウム111のいずれかに結合した抗CD20モノクローナル抗体であるイブリツモマブチウキセタン、およびヨウ素131に結合した抗CD20モノクローナル抗体であるトシツモマブが含まれるが、これらに限定されるわけではない。

【0065】

3. 薬理学的治療および/または破壊

いくつかの態様では、病変は、対象に剤を投与することによって、インビボで遺伝子操作された細胞を調節するために、例えば対象に投与された遺伝子操作細胞の拡大を促進する、増強する、または増大させるために、治療および/または破壊される。特定の態様では、剤は医薬品である。いくつかの態様では、剤は治療薬である。いくつかの態様では、剤は免疫調節剤である。特定の態様では、剤は化学療法剤である。

10

【0066】

いくつかの態様では、免疫調節剤などの剤は、分子の機能、または前記分子が関与するシグナル伝達経路を阻害または遮断することができる。いくつかの態様では、分子は、免疫細胞上に発現されるかまたは免疫シナプスの一部であり、例えばT細胞または抗原提示細胞または免疫応答に関連する他の細胞上に発現される。いくつかのそのような局面では、分子は免疫阻害分子であるか、または分子は免疫チェックポイント分子である。いくつかの態様では、免疫チェックポイント分子または経路は、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、VISTA、アデノシン2A受容体 (A2AR)、もしくはアデノシン、または前記のいずれかを含む経路である。

20

【0067】

いくつかの態様では、化学療法剤は抗体であるかまたはそれを含み、抗体断片、一本鎖抗体、多重特異性抗体、または免疫複合体であり得る。いくつかの態様では、抗体は、免疫チェックポイント分子またはそのリガンドもしくは受容体に特異的に結合する。いくつかの態様では、抗体は、免疫チェックポイント分子とそのリガンドまたは受容体との間の相互作用を遮断するまたは損なうことができる。

【0068】

いくつかの態様では、病変は、対象に免疫調節剤を投与することによって、インビボで遺伝子操作された細胞を調節するために治療および/または破壊される。いくつかの態様では、免疫調節剤は、免疫チェックポイント経路の成分を遮断、阻害、または中和する。免疫系は、自己寛容を維持することに關与しあつ免疫応答を調節するための、複数の阻害経路を有する。腫瘍は、特に腫瘍抗原に特異的なT細胞、例えばCAR発現細胞などの操作された細胞に対する免疫耐性の主要な機構として特定の免疫チェックポイント経路を使用することができる (Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264)。多くのそのような免疫チェックポイントはリガンド-受容体相互作用によって開始されるので、それらはリガンドおよび/またはそれらの受容体に対する抗体によって容易に遮断され得る。大部分の抗癌剤とは対照的に、チェックポイント阻害剤は必ずしも腫瘍細胞を直接標的とするのではなく、むしろ免疫系の内因性抗腫瘍活性を増強するためにリンパ球受容体またはそれらのリガンドを標的とする。

30

【0069】

特定の態様では、病変は、免疫チェックポイント阻害剤を対象に投与することによって治療および/または破壊される。いくつかの態様では、免疫チェックポイント阻害剤は、1つまたは複数のチェックポイントタンパク質を完全にまたは部分的に低減する、阻害する、妨げる、または調節する分子である。いくつかの態様では、チェックポイントタンパク質は、T細胞の活性化もしくは機能を調節する、および/またはT細胞応答に関連する共刺激もしくは阻害相互作用に關与する任意のタンパク質である。免疫チェックポイントタンパク質は、自己寛容ならびに生理学的免疫応答の持続期間および大きさを調節し、維持する。免疫チェックポイント阻害剤には、免疫系の阻害経路の活性または機能を遮断、阻害、または低減する任意の剤が含まれる。そのような阻害剤は、小分子阻害剤を含み得るか、または免疫チェックポイント受容体、リガンドおよび/もしくは受容体-リガンド相互作

40

50

用に結合してそれを遮断もしくは阻害する抗体もしくはその抗原結合断片を含み得る。いくつかの態様では、特定の受容体の調節、増強および/または刺激は、免疫チェックポイント経路の成分を克服することができる。遮断、阻害、調節、増強および/または刺激のために標的とし得る例示的な免疫チェックポイント分子としては、PD-1 (CD279)、PD-L1 (CD274、B7-H1)、PDL2 (CD273、B7-DC)、CTLA-4、LAG-3 (CD223)、TIM-3,4-1BB (CD137)、4-1BBL (CD137L)、GITR (TNFRSF18、AITR)、CD40、OX40 (CD134、TNFRSF4)、CXCR2、腫瘍関連抗原 (TAA)、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、GAL9、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4 (CD2ファミリーの分子に属し、すべてのNK、
、および記憶CD8 + () T細胞上に発現される)、CD160 (BY55とも称される)、CEACAM (例えればCEACAM-1、CEACAM-3および/またはCEACAM-5)、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3 (CD276)、B7-H4 (VTCN1)、HVEM (TNFRSF14またはCD270)、KIR、A2aR、MHCクラスI、MHCクラスII、GAL9、アデノシン、およびトランスフォーミング増殖因子受容体 (TGFR; 例えればTGFR) が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。免疫チェックポイント阻害剤には、抗体、またはその抗原結合断片、または前記分子のいずれかの1つまたは複数に結合してそれを遮断もしくは阻害するおよび/またはその活性を増強もしくは刺激する他の結合タンパク質が含まれる。

【 0 0 7 0 】

例示的な免疫チェックポイント阻害剤としては、トレメリムマブ (チシリムマブ、CP-675,206としても知られる、CTLA-4遮断抗体)、抗OX40、PD-L1モノクローナル抗体 (抗B7-H1; MEDI4736、デュルバルマブとも称される)、MK-3475 (PD-1ブロッカー)、ニボルマブ (抗PD-1抗体)、CT-011 (抗PD-1抗体)、BY55モノクローナル抗体、AMP224 (抗PD-L1抗体)、BMS-936559 (抗PD-L1抗体)、MPDL3280A (抗PD-L1抗体)、MSB0010718C (抗PD-L1抗体) およびイピリムマブ (抗CTLA-4抗体、Yervoy (登録商標))、MDX-010およびMDX-101としても知られる) が挙げられる。免疫調節抗体の例には、ダクリズマブ (Zenapax)、ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標))、バシリキシマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ペンプロリズマブ、MPDL3280A、ビジリズマブ (CT-011)、MK-3475、BMS-936559、MPDL3280A (アテゾリズマブ)、トレメリムマブ、IMP321、BMS-986016、LAG525、ウレルマブ、PF-05082566、TRX518、MK-4166、ダセツズマブ (SGN-40)、ルカツムマブ (HCD122)、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、MSB0010718C (アベルマブ)、MEDI4736 (デュルバルマブ)、PDR001、rH IgM12B7、ウロクプルマブ、BKT140、バルリルマブ (CDX-1127)、ARGX-110、MGA271、リリルマブ (BMS-986015、IPH2101)、IPH2201、ARGX-115、エマクツズマブ、CC-90002、およびMNR1685A、またはその抗体結合断片が含まれるが、これらに限定されるわけではない。他の例示的な免疫調節剤としては、例えはアフツズマブ (ROCHE (登録商標) から入手可能)、ペグフィルグラスチム (N EULASTA (登録商標))、レナリドミド (CC-5013、REVELIMID (登録商標))、サリドマイド (THALOMID (登録商標))、アクチミド (CC4047)、およびIRX-2 (インターロイキン1、インターロイキン2、およびインターフェロン を含むヒトサイトカインの混合物、CAS951209-71-5、IRX Therapeuticsから入手可能) が挙げられる。

【 0 0 7 1 】

いくつかの態様では、病変は、プログラム細胞死1 (PD-1) に結合するおよび/またはそれを阻害する免疫調節剤を対象に投与することによって治療および/または破壊される。PD-1は、B細胞、NK細胞、およびT細胞において発現される免疫チェックポイントタンパク質である (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264)。PD-1の主な役割は、感染に応答して炎症中の周辺組織におけるT細胞の活性を制限すること、ならびに自己免疫を制限することである。PD-1発現は活性化T細胞において誘導され、PD-1のその内因性リガンドの1つへの結合は、刺激キナーゼを阻害することによってT細胞活性化を阻害するように働く。PD-1はまた、TCR 「停止シグナル」を阻害するように作用する。PD-1はTreg細胞上に高度に発現され、リガンドの存在下でその増殖を増加し得る (Pardoll (2012) Nature Review Cancer 12:252-259)。

10

20

30

40

50

64)。抗PD-1抗体は、黒色腫、非小細胞肺癌、膀胱癌、前立腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、トリプルネガティブ乳癌、白血病、リンパ腫および腎細胞癌の治療に使用されている (Topalian et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2443-54 ; Lipson et al., 2013, *Clin Cancer Res* 19:462-8 ; Berger et al., 2008, *Clin Cancer Res* 14:3044-51 ; Gildener-Leipman et al., 2013, *Oral Oncol* 49:1089-96 ; Menzies & Long, 2013, *Ther Adv Med Oncol* 5:278-85)。いくつかの態様では、病変は、抗PD-1抗体またはその抗原結合断片を対象に投与することによって治療および/または破壊される。例示的な抗PD-1抗体としては、ニボルマブ (BMSによるOpdivo)、ペムプロリズマブ (MerckによるKeytruda)、ピジリズマブ (Cure TechによるCT-011)、ラムプロリズマブ (MerckによるMK-3475)、およびAMP-224 (Merck) が挙げられ、ニボルマブ (Opdivo、BMS-936558またはMDX1106とも称される ; Bristol-Myers Squibb) は、PD-1を特異的に遮断する完全ヒトIgG4モノクローナル抗体である。ニボルマブ (クローン5C4) およびPD-1に特異的に結合する他のヒトモノクローナル抗体は、米国特許第8,008,449号および国際公開公報第2006/121168号に記載されている。ピジリズマブ (CT-011 ; Cure Tech) は、PD-1に結合するヒト化IgG1kモノクローナル抗体である。ピジリズマブおよび他のヒト化抗PD-1モノクローナル抗体は、国際公開公報第2009/101611号に記載されている。ペムプロリズマブ (以前はラムプロリズマブとして知られており、Keytruda、MK03475とも称される ; Merck) は、PD-1に結合するヒト化IgG4モノクローナル抗体である。ペムプロリズマブおよび他のヒト化抗PD-1抗体は、米国特許第8,354,509号および国際公開公報第2009/114335号に記載されている。他の抗PD-1抗体には、とりわけ、AMP 514 (Amplimmune)、例えば米国特許第8,609,089号、米国特許出願第2010028330号、同第20120114649号および/または同第20150210769号に記載されている抗PD-1抗体が含まれる。AMP-224 (B7-DC Ig ; Amplimmune ; 例えば、国際公開公報第2010/027827号および同第2011/066342号に記載されている) は、PD-1とB7-H1との間の相互作用を遮断するPD-L2 Fc融合可溶性受容体である。

【0072】

特定の態様では、病変は、PD-L1 (CD274およびB7-H1としても知られる) および/またはPD-L2 (CD273およびB7-DCとしても知られる) に結合するおよび/または阻害する免疫調節剤を対象に投与することによって治療および/または破壊される。PD-L1およびPD-L2は、活性化T細胞、B細胞、骨髄細胞、マクロファージ、およびいくつかの種類の腫瘍細胞に見られる、PD-1のリガンドである。抗腫瘍療法は抗PD-L1抗体に焦点を合わせている。PD-1とPD-L1の複合体はCD8⁺T細胞の増殖を阻害し、免疫応答を低減させる (Topalian et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2443-54 ; Brahmer et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2455-65)。抗PD-L1抗体は、非小細胞肺癌、黒色腫、結腸直腸癌、腎細胞癌、膀胱癌、胃癌、卵巣癌、乳癌、および血液悪性腫瘍の治療に使用されている (Brahmer et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2455-65 ; Ott et al., 2013, *Clin Cancer Res* 19:5300-9 ; Radvanyi et al., 2013, *Clin Cancer Res* 19:5541 ; Menzies & Long, 2013, *Ther Adv Med Oncol* 5:278-85 ; Berger et al., 2008, *Clin Cancer Res* 14:13044-51)。特定の態様では、病変は、抗PD-L1抗体、またはその抗原結合断片を対象に投与することによって治療および/または破壊される。例示的な抗PD-L1抗体には、MDX-1105 (Medarex)、MEDI4736 (デュルバルマブ、Medimmune)、MPDL3280A (Genentech)、BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) およびMSB0010718Cが含まれる。

【0073】

いくつかの態様では、免疫調節剤は抗PD-L1抗体である。抗PD-L1抗体の例は、PD-L1に結合して、PD-1とリガンドとの相互作用を阻害するヒトモノクローナル抗体である、MEDI4736 (デュルバルマブ、Medimmune) である (米国特許第8,779,108号参照)。いくつかの態様では、免疫調節剤は、PD-L1に結合するヒトFc最適化IgG1モノクローナル抗体である、MDPL3280A (Genentech/Roche) である。MDPL3280AおよびPD-L1に対する他のヒトモノクローナル抗体は、米国特許第7,943,743号および米国特許出願公開第20120039906号に記載されている。他の抗PD-L1結合剤には、YW243.55.S70 (国際公開公報第2010/077634号参照)、MDX-1105 (BMS-936559とも称され、例えば国際公開公報第2007/005874号に記載され

10

20

30

40

50

ている抗PD-L1結合剤)、LY3300054(米国特許出願第2017/0058033号参照)、アテゾリズマブ(米国特許第8,217,149号参照)、およびアベルマブ(米国特許第9,624,298号)が含まれる。

【0074】

特定の態様では、病変は、CD152としても知られる細胞傷害性Tリンパ球関連抗原(CTLA-4)の阻害剤を投与することによって治療および/または破壊される。CTLA-4は、T細胞活性化を調節するように機能する共阻害分子である。CTLA-4は、T細胞上に獨占的に発現される免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーである。CTLA-4は、T細胞活性化を阻害するように作用し、ヘルパーT細胞活性を阻害して制御性T細胞免疫抑制活性を増強することが報告されている。CTLA-4の正確な作用機序は未だ調査中であるが、CD80およびCD86への結合においてCD28に打ち勝つこと、ならびに阻害剤シグナルをT細胞に活発に送達することによってT細胞活性化を阻害することが示唆されている(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。抗CTLA-4抗体は、黒色腫、前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌の治療のための臨床試験において使用されている(Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89)。抗CTLA-4の重要な特徴は、抗腫瘍効果の反応速度論であり、生理学的応答に必要な初期治療後6ヶ月までの遅延期間を有する。いくつかの場合には、腫瘍は、治療開始後、縮小が見られる前に、実際にはサイズが大きくなることがある(Pardoll(2012)Nature Reviews Cancer 12:252-264)。特定の態様では、病変は、抗CTLA-4抗体、またはその抗原結合断片を対象に投与することによって治療および/または破壊される。例示的な抗CTLA-4抗体には、イピリムマブ(Bristol-Myers Squibb)およびトレメリムマブ(Pfizer)が含まれる。イピリムマブは最近、転移性黒色腫の治療についてFDAの承認を受けた(Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89)。

【0075】

特定の態様では、病変は、CD223としても知られるリンパ球活性化遺伝子-3(LAG-3)に結合するおよび/またはそれを阻害する免疫調節剤を投与することによって治療および/または破壊される。LAG-3は、リンパ球活性の阻害およびいくつかの場合にはリンパ球アネルギーの誘導に関連する免疫チェックポイントタンパク質である。LAG-3は、B細胞、NK細胞、および樹状細胞を含む免疫系の様々な細胞上に発現される。LAG-3は、強力な免疫抑制活性を有するものを含む黒色腫浸潤T細胞上に実質的に発現される、MHCクラスII受容体に対する天然リガンドである。特定の態様では、病変は、抗LAG-3抗体、またはその抗原結合断片を対象に投与することによって治療および/または破壊される。例示的な抗LAG-3抗体には、LAG-3を標的とするモノクローナル抗体である、BMS-986016(Bristol-Myers Squibb)が含まれる。IMP701(Immutep)はアンタゴニストLAG-3抗体であり、IMP731(ImmutepおよびGlaxoSmithKline)は枯渇性LAG-3抗体である。他のLAG-3阻害剤には、MHCクラスII分子に結合して抗原提示細胞(APC)を活性化するLAG-3の可溶性部分とIgとの組換え融合タンパク質である、IMP321(Immutep)が含まれる。他の抗体は、例えば国際公開公報第2010/019570号および米国特許出願第2015/0259420号に記載されている。

【0076】

いくつかの態様では、病変は、T細胞免疫グロブリンDメインおよびムチンドメイン-3(TIM-3)に結合するおよび/またはそれを阻害する免疫調節剤を投与することによって治療および/または破壊される。活性化Th1細胞上で最初に同定されたTIM-3は、免疫応答の負の調節因子であることが示されている。TIM-3の遮断は、T細胞媒介抗腫瘍免疫を促進し、一連のマウス腫瘍モデルにおいて抗腫瘍活性を有する。TIM-3遮断と、TSR-042、抗CD137抗体等のような他の免疫療法剤との組み合わせは、抗腫瘍効果を増大させる上で相加的または相乗的であり得る。TIM-3発現は、黒色腫、NSCLCおよび腎臓癌を含む多くの異なる腫瘍型と関連しており、さらに、腫瘍内TIM-3の発現は、NSCLC、子宮頸癌、および胃癌を含む一連の腫瘍型にわたって予後不良と相關することが示されている。TIM-3の遮断はまた、多くの慢性ウイルス性疾患に対する免疫増強を促進することにおいても興味深い。TI

M-3は、ガレクチン-9、ホスファチジルセリン、およびHMGB1を含む多数のリガンドと相互作用することも示されているが、これらのうちのいずれが抗腫瘍応答の調節に関連するかは現在のところ明らかではない。いくつかの態様では、TIM-3を標的とする抗体、抗体断片、小分子、またはペプチド阻害剤は、TIM-3のIgVドメインに結合してそのリガンドとの相互作用を阻害することができる。いくつかの態様では、病変は、TIM-3に結合するおよび/またはそれを阻害する抗体、またはその抗原結合断片、またはペプチドを投与することによって治療および/または破壊される。TIM-3を阻害する例示的な抗体およびペプチドは、米国特許出願第2015/0218274号、国際公開公報第2013/006490号および米国特許出願第2010/0247521号に記載されている。他の抗TIM-3抗体には、ヒト化バージョンのRMT3-23 (Ngiow et al., 2011, *Cancer Res*, 71:3540-3551)、およびクローニング8B.2C12 (Monney et al., 2002, *Nature*, 415:536-541) が含まれる。TIM-3およびPD-1を阻害する二重特異性抗体は、米国特許出願第2013/0156774号に記載されている。10

【 0 0 7 7 】

いくつかの態様では、病変は、CEACAM阻害剤（例えばCEACAM-1、CEACAM-3、および/またはCEACAM-5阻害剤）を対象に投与することによって治療および/または破壊される。特定の態様では、CEACAMの阻害剤は、抗CEACAM抗体またはその抗原結合断片もしくは変異体である。例示的な抗CEACAM-1抗体は、国際公開公報第2010/125571号、同第2013/082366号、同第2014/059251号、および同第2014/022332号に記載されており、例えばモノクローナル抗体34B1、26H7、および5F4であるか、または米国特許出願第2004/0047858号、米国特許第7,132,255号および国際公開公報第99/052552号に記載されているその組換え形態である。いくつかの態様では、抗CEACAM抗体は、例えばZheng et al. *PLoS One* (2011) 6 (6) :e21146に記載されているようにCEACAM-5に結合するか、または、例えば国際公開公報第2013/054331号および米国特許出願第2014/0271618号に記載されているようにCEACAM-1およびCEACAM-5と交差反応する。20

【 0 0 7 8 】

特定の態様では、病変は、CD137としても知られる4-1BBに結合するおよび/またはそれを阻害する免疫調節剤を投与することによって治療および/または破壊される。4-1BBは、TNFRスーパーファミリーに属する膜貫通糖タンパク質である。4-1BB受容体は、活性化T細胞およびB細胞および単球上に存在する。いくつかの態様では、抗4-1BB抗体、またはその抗原結合断片は、病変を治療および/または破壊するために対象に投与される。例示的な抗4-1BB抗体はウレルマブ (BMS-663513) であり、これは潜在的な免疫刺激活性および抗新生物活性を有する。30

【 0 0 7 9 】

いくつかの態様では、病変は、サリドマイドの構造的もしくは機能的類似体もしくは誘導体である免疫調節剤および/またはE3ユビキチンリガーゼの阻害剤を投与することによって治療および/または破壊される。いくつかの態様では、免疫調節剤はセレブロン (CRBN) に結合する。いくつかの態様では、免疫調節剤はCRBN E3ユビキチン-リガーゼ複合体に結合する。いくつかの態様では、免疫調節剤はCRBNおよびCRBN E3ユビキチン-リガーゼ複合体に結合する。いくつかの態様では、免疫調節剤はCRBNのタンパク質または遺伝子発現を上方調節する。いくつかの局面では、CRBNはCRL4^{CRBN} E3ユビキチンリガーゼの基質アダプタであり、この酵素の特異性を調節する。いくつかの態様では、CRBまたはCRBN E3ユビキチンリガーゼ複合体への結合は、E3ユビキチンリガーゼ活性を阻害する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、KZF1 (イカラス) およびIKZF3 (アイオロス) のユビキチン化を誘導し、および/またはIKZF1 (イカラス) およびIKZF3 (アイオロス) の分解を誘導する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、CRL4^{CRBN} E3ユビキチンリガーゼによるカゼインキナーゼ1A1 (CK1^{A1}) のユビキチン化を誘導する。いくつかの態様では、CK1^{A1} のユビキチン化はCK1^{A1} の分解をもたらす。40

【 0 0 8 0 】

いくつかの態様では、免疫調節剤はイカラス (IKZF1) 転写因子の阻害剤である。いくつかの態様では、免疫調節剤はイカラスのユビキチン化を増強する。いくつかの態様では50

、免疫調節剤はイカロスの分解を促進する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、イカロスのタンパク質または遺伝子発現を下方調節する。いくつかの態様では、免疫調節剤の投与は、イカロスタンパク質レベルの低下を引き起こす。

【0081】

いくつかの態様では、免疫調節剤はアイオロス (IKZF3) 転写因子の阻害剤である。いくつかの態様では、免疫調節剤はアイオロスのユビキチン化を増強する。いくつかの態様では、免疫調節剤はアイオロスの分解を促進する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、アイオロスのタンパク質または遺伝子発現を下方調節する。いくつかの態様では、免疫調節剤の投与は、アイオロスタンパク質レベルの低下を引き起こす。

【0082】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、イカロス (IKZF1) およびアイオロス (IKZF3) 転写因子の両方の阻害剤である。いくつかの態様では、免疫調節剤は、イカロスとアイオロスの両方のユビキチン化を増強する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、イカロスおよびアイオロスの両方の分解を促進する。いくつかの態様では、免疫調節剤は、イカロスおよびアイオロスの両方のユビキチン化および分解を促進する。いくつかの態様では、免疫調節剤の投与は、アイオロスタンパク質レベルおよびイカロスタンパク質レベルの両方を低下させる。

【0083】

いくつかの態様では、免疫調節剤は選択的サイトカイン阻害薬 (SelCID) である。いくつかの態様では、免疫調節剤はホスホジエステラーゼ-4 (PDE4) の活性を阻害する。いくつかの態様では、免疫調節剤はCDC25ホスファターゼの酵素活性を抑制する。いくつかの態様では、免疫調節剤はCDC25ホスファターゼの細胞内輸送を変化させる。

【0084】

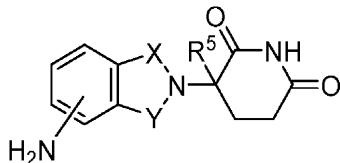
いくつかの態様では、免疫調節剤は、サリドマイド (2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオン) またはサリドマイドの類似体もしくは誘導体である。特定の態様では、サリドマイド誘導体は、類似の生物学的活性を有するサリドマイドの構造的変異体を含む。例示的なサリドマイド誘導体としては、レナリドミド (REVLI MMUNOMODULATORY COMPOUND (商標) ; Celgene Corporation)、ポマリドミド (ACTI MMUNOMODULATORY COMPOUND (商標) またはPOMALYST (商標) としても知られる ; Celgene Corporation)、CC-1088、CDC-501、およびCDC-801、ならびに米国特許第5,712,291号、同第7,320,991号および同第8,716,315号、米国特許出願第2016/0313300号、およびPCT国際公開公報第2002/068414号および同第2008/154252号に開示されている化合物が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【0085】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,635,517号に記載されているようなベンゾ環においてアミノで置換された1-オキソ-および1,3ジオキソ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリンである。

【0086】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、以下の式：



の化合物、またはその薬学的に許容される塩であり、

式中、XおよびYの一方は-C(=O)-であり、XおよびYの他方は-C(=O)-または-CH₂-であり、かつR⁵は水素または低級アルキルである。いくつかの態様では、Xは-C(=O)-であり、Yは-CH₂-である。いくつかの態様では、XおよびYは両方とも-C(=O)-である。いくつかの態様では、R⁵は水素である。他の態様では、R⁵はメチルである。

【0087】

10

20

30

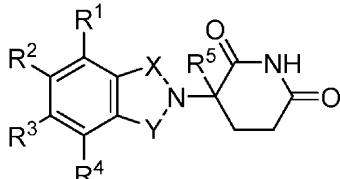
40

50

いくつかの態様では、免疫調節化合物は、置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)フタルイミド免疫調節化合物および置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドールのクラスに属する化合物、例えば、各々が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第6,281,230号、同第6,316,471号、同第6,335,349号および同第6,476,052号、ならびに国際特許出願第PCT/US97/13375号（国際公開公報第98/03502号）に記載されているものである。

【0088】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、以下の式：



の化合物、またはその薬学的に許容される塩であり、

式中、

XおよびYの一方は-C(=O)-であり、XおよびYの他方は-C(=O)-または-CH₂-であり；

(1) R¹、R²、R³、およびR⁴のそれぞれは、独立して、ハロ、1~4個の炭素原子のアルキル、またはアルコキシまたは1~4個の炭素原子であるか；または

(2) R¹、R³、R⁴、およびR⁵のうちの1つは-NHR^aであり、R¹、R²、R³、およびR⁴の残りは水素であり、ここでR^aは水素または1~8個の炭素原子のアルキルであり；

R⁵は、水素または1~8個の炭素原子のアルキル、ベンジル、またはハロであり；

ただし、XおよびYが-C(=O)-であり、かつ(i) R¹、R²、R³、およびR⁴のそれぞれがフルオロであるか、または(ii) R¹、R²、R³、およびR⁴のうちの1つがアミノである場合、R⁵は水素以外である。

【0089】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、各々が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第7,091,353号、米国特許出願公開第2003/0045552号、および国際出願第PCT/US01/50401号（国際公開公報第02/059106号）に開示されているイソインドール免疫調節化合物のクラスに属する化合物である。例えば、いくつかの態様では、免疫調節剤は[2-(2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イルメチル]-アミド；(2-(2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イルメチル)-カルバミン酸tert-ブチルエステル；4-(アミノメチル)-2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-イソインドリン-1,3-ジオン；N-(2-(2,6-ジオキソ-ピペリジン-3-イル)-1,3-ジオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-4-イルメチル)-アセトアミド；N-{(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル)-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)メチル}シクロプロピル-カルボキサミド；2-クロロ-N-{(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)メチル}アセトアミド；N-(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)-3-ピリジルカルボキサミド；3-{1-オキソ-4-(ベンジルアミノ)イソインドリン-2-イル}ピペリジン-2,6-ジオン；2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-4-(ベンジルアミノ)イソインドリン-1,3-ジオン；N-{(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)メチル}プロパンアミド；N-{(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)メチル}ヘプタンアミド；N-{(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)メチル}-2-フリカルボキサミド；{N-(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)カルバモイル}メチルアセテート；N-(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)ペンタンアミド；N-(2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル)-2-チエニルカルボキサミド；N-{[2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオ

10

20

30

40

50

キソイソインドリン-4-イル]メチル} (ブチルアミノ)カルボキサミド; N-{[2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル]メチル} (オクチルアミノ)カルボキサミド; またはN-{[2-(2,6-ジオキソ(3-ピペリジル))-1,3-ジオキソイソインドリン-4-イル]メチル} (ベンジルアミノ)カルボキサミドである。

【0090】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、各々が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2002/0045643号、国際公開公報第98/54170号、および米国特許第6,395,754号に開示されているイソインドール免疫調節化合物のクラスに属する化合物である。

いくつかの態様では、免疫調節剤は、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,798,368号に記載されている四置換2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリンである。いくつかの態様では、免疫調節剤は、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第6,403,613号に開示されている1-オキソおよび1,3-ジオキソ-2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)イソインドリンである。いくつかの態様では、免疫調節剤は、どちらも参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第6,380,239号および同第7,244,759号に記載されているインドリン環の4位または5位が置換されている1-オキソまたは1,3-ジオキソイソインドリンである。

【0091】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、2-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-4-カルバモイル-酪酸または4-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル)-4-カルバモイル-酪酸である。いくつかの態様では、免疫調節化合物は、4-カルバモイル-4-{4-[(フラン-2-イル-メチル)-アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル}-酪酸、4-カルバモイル-2-{4-[(フラン-2-イル-メチル)-アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル}-4-フェニルカルバモイル-酪酸、または2-{4-[(フラン-2-イル-メチル)-アミノ]-1,3-ジオキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル}-ペンタン二酸である。

【0092】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第6,458,810号に記載されている2,6-ジオキソ-3-ヒドロキシペリジン-5-イルで2位が置換されているイソインドリン-1-オンまたはイソインドリン-1,3-ジオンである。いくつかの態様では、免疫調節化合物は、3-(5-アミノ-2-メチル-4-オキソ-4H-キナゾリン-3-イル)-ピペリジン-2,6-ジオン、またはそのエナンチオマーもしくはエナンチオマーの混合物であるか、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である。いくつかの態様では、免疫調節化合物は、3-[4-(4-モルホリン-4-イルメチル-ベンジルオキシ)-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-イソインドール-2-イル]-ピペリジン-2,6-ジオンである。

【0093】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、Oshima,K.et al., Nihon Rinsho.,72(6):1130-5(2014); Millrine,D.et al., Trends Mol Med.,23(4):348-364(2017); およびCollins,et al., Biochem J.,474(7):1127-1147(2017)に記載されている通りである。

【0094】

いくつかの態様では、免疫調節剤は、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミド、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である。いくつかの態様では、免疫調節化合物は、レナリドミド、レナリドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である。いくつかの態様では、免疫調節化合物は、レナリドミド、または((RS)-3-(4-アミノ-1-オキソ-1,3-ジヒドロ-2H-イソインドール-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン)である。

【0095】

特定の態様では、病変は、サリドマイド誘導体レナリドミド、((RS)-3-(4-アミノ-

10

20

30

40

50

1-オキソ-1,3-ジヒドロ-2H-イソインドール-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン)を対象に投与することによって治療および/または破壊される。レナリドミドは、多発性骨髄腫、欠失5qに関連する骨髄異形成症候群、および最近では再発/難治性のマントル細胞リンパ腫(MCL)の治療についてFDAに承認されている。レナリドミドは通常サリドマイドの合成誘導体であり、現在、T細胞と抗原提示細胞(APC)との間の免疫シナプス形成の強化を含む複数の免疫調節作用を有すると理解されている。例えば、いくつかの場合には、レナリドミドはT細胞応答を調節し、CD4⁺およびCD8⁺T細胞におけるインターロイキン(IL)-2産生の増加をもたらし、Tヘルパー(Th)応答のTh2からTh1へのシフトを誘導し、T細胞の制御性サブセット(Treg)の拡大を阻害し、ならびに滤胞性リンパ腫および慢性リンパ性白血病(CLL)における免疫学的シナプスの機能を改善する(Otahal et al., *Oncoimmunology* (2016) 5(4): e1115940)。レナリドミドはまた、多発性骨髄腫(MM)の患者において直接的な殺腫瘍活性を有し、リンパ組織の微小環境に見られる栄養細胞様細胞などの支持細胞に影響を及ぼすことによって直接的および間接的にCLL腫瘍細胞の生存を調節する。レナリドミドはまた、CD3結合または樹状細胞媒介活性化を介したT細胞の活性化に応答してT細胞増殖およびインターフェロン産生を増強することができる。さらに、レナリドミドは、TNF-、IL-1、IL-6、およびIL-12を含む炎症誘発性サイトカインの増殖を減少させ、NK細胞活性化の増加を介して抗体依存性細胞傷害(ADCC)を増強すると考えられている。レナリドミドはまた、悪性B細胞がCD80、CD86、HLA-DR、CD95、およびCD40などの免疫刺激分子のより高いレベルを発現するように誘導することもできる(Fecteau et al., *Blood* (2014) 124(10): 1637-1644)。E3ユビキチンリガーゼであるセレブロンは、サリドマイド誘発性奇形の主な標的として同定された(Ito et al., T., (2010) *Science* 327:1345-1350)。レナリドミドもセレブロンを標的とし、これがc-MycおよびIRF4発現の減少をもたらし、同時にG1細胞周期停止をもたらすp21の発現も増加させることができ(Lopez-Girona et al., (2012) *Leukemia* 26:2326-2335)。

【0096】

いくつかの態様では、病変は、アデノシンレベルを調節するおよび/またはアデノシン経路の成分の活性もしくは量を調節する剤を投与することによって治療および/または破壊される。アデノシンは体内で免疫調節剤として機能することができる。例えば、アデノシンおよびアデノシン受容体サブタイプを非選択的に活性化するいくつかのアデノシン類似体は、好中球の炎症性酸化産物産生を減少させる(Cronstein et al., *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 451:291, 1985; Roberts et al., *Biochem.J.*, 227: 669, 1985; Schrier et al., *J. Immunol.* 137:3284, 1986; Cronstein et al., *Clinical Immunol. Immunopath.* 42: 76, 1987)。いくつかの場合には、細胞外アデノシンまたはアデノシン類似体の濃度は、特定の環境、例えば腫瘍微小環境(TME)において増加し得る。いくつかの場合には、アデノシンまたはアデノシン類似体シグナル伝達は、低酸素または低酸素もしくはその調節に関与する因子、例えば低酸素誘導因子(HIF)に依存する。いくつかの態様では、アデノシンシグナル伝達の増加は、炎症誘発性サイトカイン産生の阻害をもたらす細胞内cAMPおよびcAMP依存性プロテインキナーゼを増加させ得、免疫抑制分子の合成およびTregの発生をもたらし得る(Sitkovsky et al., *Cancer Immunol Res* (2014) 2(7):598-605)。いくつかの態様では、追加の剤は、アデノシン、アデノシン類似体、および/またはアデノシンシグナル伝達の免疫抑制作用を低減または逆転させることができる。いくつかの態様では、追加の剤は、低酸素駆動A2アデノシン作動性T細胞免疫抑制を低減または逆転させることができる。いくつかの態様では、追加の剤は、アデノシン受容体のアンタゴニスト、細胞外アデノシン分解剤、CD39/CD73細胞外酵素によるアデノシン生成の阻害剤、および低酸素-HIF-1シグナル伝達の阻害剤の中から選択される。いくつかの態様では、追加の剤はアデノシン受容体アンタゴニストまたはアゴニストである。

【0097】

特定の態様では、病変を治療および/または破壊するために、細胞外アデノシンを阻害または低減する剤を対象に投与する。いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために、アデノシン受容体の活性および/または量を阻害する剤を対象に投与する

10

20

30

40

50

。特定の態様は、細胞外アデノシンの阻害剤（細胞外アデノシンの形成を防止する、細胞外アデノシンを分解する、不活性にする、および/もしくは減少させる剤など）および/またはアデノシン受容体阻害剤（アデノシン受容体アンタゴニストなど）による細胞外アデノシンまたはアデノシン受容体の阻害または低減は、マクロファージ、好中球、顆粒球、樹状細胞、T細胞および/またはB細胞を介した応答などの免疫応答を増強し得ると想定する。さらに、Gsタンパク質媒介cAMP依存性細胞内経路の阻害剤およびアデノシン受容体誘発Giタンパク質媒介細胞内経路の阻害剤も、急性および慢性炎症を増大させ得る。

【0098】

いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために、アデノシン受容体アンタゴニストを対象に投与する。特定の態様では、病変を治療および/または破壊するために、アデノシン受容体アンタゴニストを対象に投与する。いくつかの態様では、アデノシン受容体アンタゴニストは、A2a、A2b、および/またはA3アンタゴニストである。A2a、A2b、およびA3受容体は免疫応答を抑制または低減することができ、したがって免疫抑制アデノシン受容体に拮抗することは、免疫応答を増大させる、促進する、または増強することができる。いくつかの態様では、細胞外アデノシンの產生を阻害するおよび/またはアデノシン受容体を介したアデノシン誘発シグナル伝達を阻害する剤を、病変を治療および/または破壊するために対象に投与する。いくつかの態様では、病変に対する免疫応答、病変の組織炎症、および病変の標的組織破壊は、アデノシンを產生する局所組織の低酸素を阻害もしくは低減することによって、蓄積した細胞外アデノシンを分解すること（または不活性にすること）によって、免疫細胞上のアデノシン受容体の発現を防止もしくは減少させることによって、および/またはアデノシン受容体を介したアデノシンリガンドによるシグナル伝達を阻害することによって増強することができる。

10

20

30

40

50

【0099】

特定の態様では、病変を治療および/または破壊するために、アデノシン受容体アンタゴニストを対象に投与する。いくつかの態様では、アンタゴニストは、A2a、A2b、またはA3受容体アンタゴニストなどの小分子アデノシン受容体アンタゴニストである。いくつかの態様では、アンタゴニストは、A2a、A3b、および/またはA3アデノシン受容体に結合するが、G_iタンパク質依存性細胞内シグナル伝達経路を誘発しないペプチド、またはペプチドミメティックである。そのようなアンタゴニストの例は、米国特許第5,565,566号、同第5,545,627号、同第5,981,524号、同第5,861,405号、同第6,066,642号、同第6,326,390号、同第5,670,501号、同第6,117,998号、同第6,232,297号、同第5,786,360号、同第5,424,297号、同第6,313,131号、同第5,504,090号、および同第6,322,771号に記載されている。

【0100】

いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために、A2受容体（A2R）アンタゴニストを対象に投与する。例示的なA2Rアンタゴニストとしては、KW6002（イストラデフィリン）、SCH58261、カフェイン、パラキサンチン、3,7-ジメチル-1-プロパルギルキサンチン（DMPX）、8-（m-クロロスチリル）カフェイン（CSC）、MSX-2、MSX-3、MSX-4、CGS-15943、ZM-241385、SCH-442416、プレラデナント、ビパデナント（BII014）、V2006、ST-1535、SYN-115、PSB-1115、ZM241365、FSPTP、およびA2R発現を標的とする阻害性核酸、例えばsiRNAもしくはshRNA、またはA2Rを標的とする任意の抗体もしくはその抗原結合断片が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。いくつかの態様では、追加の剤は、例えばOhta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin et al., Cancer Res. (2010) 70 (6):2245-2255; Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716; およびPinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2 (7):598-605; 米国特許第8,080,554号；同第8,716,301号；米国特許出願第20140056922号；国際公開公報第2008/147482号；米国特許第8,883,500号；米国特許出願第20140377240号；国際公開公報第02/055083号；米国特許第7,141,575号；同第7,405,219号；同第8,883,500号；同第

8,450,329号および同第8,987,279号に記載されているA2Rアンタゴニストである。

【0101】

特定の態様では、アデノシン受容体をコードするmRNAに特異的に結合するアンチセンス分子、阻害性核酸分子（例えば低分子阻害性RNA（siRNA））または触媒性核酸分子（例えばリボザイム）であるアデノシン受容体アンタゴニストを、病変を治療および/または破壊するために対象に投与する。いくつかの態様では、アンチセンス分子、阻害性核酸分子または触媒性核酸分子は、A2a、A2b、またはA3をコードする核酸に結合する。いくつかの態様では、アンチセンス分子、阻害性核酸分子または触媒性核酸は、アデノシン受容体の下流の生化学的経路を標的とする。例えば、アンチセンス分子または触媒性核酸は、G_sタンパク質またはG_iタンパク質依存性細胞内経路に関与する酵素を阻害することができる。いくつかの態様では、追加の剤は、A2a、A2b、またはA3などのアデノシン受容体のドミナントネガティブ変異型を含む。

【0102】

いくつかの態様では、病変は、細胞外アデノシンを阻害する剤を対象に投与することによって治療および/または破壊される。細胞外アデノシンを阻害する剤には、細胞外アデノシンを非機能性にする（例えば細胞外アデノシンをアデノシン受容体に結合するおよび/またはそれを活性化することができないようにする）剤、例えば細胞外アデノシンの構造を修飾する物質が含まれる。いくつかの態様では、追加の剤は、細胞外アデノシン生成酵素またはアデノシン分解酵素、その修飾型、またはそのモジュレータである。例えば、いくつかの態様では、追加の剤は、アデノシンに選択的に結合してそれを破壊する酵素（例えばアデノシンデアミナーゼ）または別の触媒分子であり、それによって内因的に形成されたアデノシンがアデノシン受容体を介してシグナル伝達し、炎症を終結させる能力を無効にするまたは低下させる。

【0103】

特定の態様では、病変は、アデノシンデアミナーゼ（ADA）またはその修飾型、例えば組換えADAおよび/またはポリエチレングリコール修飾ADA（ADA-PEG）を対象に投与することによって治療および/または破壊される。アデノシンデアミナーゼは、細胞外アデノシンの局所組織蓄積を阻害することができる。ADA-PEGは、ADA SCIDを有する患者の治療に使用されてきた（Hershfield (1995) Hum Mutat 5:107）。いくつかの態様では、細胞外アデノシンの形成を防止もしくは減少させ、および/または細胞外アデノシンの蓄積を防止もしくは減少させ、それによってアデノシンの免疫抑制作用を無効にするまたは実質的に減少させる剤を含む、細胞外アデノシンを阻害する剤を対象に投与する。いくつかの態様では、核転写因子のモジュレータを含む、炎症誘発性分子の合成および/または分泌の調節に関与する酵素およびタンパク質を特異的に阻害する剤を対象に投与する。アデノシン受容体発現、またはG_sタンパク質もしくはG_iタンパク質依存性細胞内経路の発現、またはcAMP依存性細胞内経路の発現の抑制は、免疫応答の増加/増強をもたらし得る。

【0104】

いくつかの態様では、細胞外アデノシンを生成または産生する細胞外酵素を標的とする剤を、病変を治療および/または破壊するために対象に投与する。いくつかの態様では、剤は、細胞外アデノシンを生成するために協力して機能する、CD39およびCD73細胞外酵素を標的とする。CD39（エクトヌクレオシド三リン酸ジホスホヒドロラーゼとも呼ばれる）は、細胞外ATP（またはADP）を5'AMPに変換する。その後、CD73（5'ヌクレオチダーゼとも呼ばれる）が5'AMPをアデノシンに変換する。CD39の活性は、NDPキナーゼおよびアデニル酸キナーゼの作用によって可逆的であるのに対し、CD73の活性は不可逆的である。CD39およびCD73は、内皮細胞およびTregを含む腫瘍間質細胞上に、ならびに多くの癌細胞上にも発現される。例えば、内皮細胞上のCD39およびCD73の発現は、腫瘍微小環境の低酸素条件下で増加する。腫瘍低酸素は不十分な血液供給および無秩序な腫瘍血管系から生じ、酸素の送達を損ない得る（Carroll and Ashcroft (2005) , Expert. Rev. Mol. Med. 7 (6) :1-16）。低酸素はまた、アデノシンをAMPに変換するアデニル酸キナーゼ（AK）も阻害し、非常に高い細胞外アデノシン濃度をもたらす。したがって、アデノシンは、固形腫瘍内また

10

20

30

40

50

はその周囲の腫瘍微小環境 (TME) で頻繁に起こる状態である低酸素に応答して高濃度で放出される。いくつかの態様では、追加の剤は、抗CD39抗体またはその抗原結合断片、抗CD73抗体またはその抗原結合断片、例えばMED19447またはTY/23、- -メチレン-アデノシンニリン酸 (ADP) 、ARL67156、POM-3、IPH52の1つまたは複数である (例えばAllard et al.Clin Cancer Res (2013) 19 (20) :5626-5635 ; Hausler et al. , Am J Transl Res (2014) 6 (2) :129-139 ; Zhang,B. ,Cancer Res. (2010) 70 (16) :6407-6411参照) 。

【 0 1 0 5 】

いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために化学療法剤 (時として細胞傷害剤と称される) を対象に投与する。特定の態様では、病変は腫瘍である。特定の態様では、病変は癌性である。特定の態様では、化学療法剤は、癌などの過剰増殖性障害の治療、予防、または改善に有効であることが当業者に公知の任意の剤である。化学療法剤としては、小分子、合成薬物、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸 (例えばアンチセンスヌクレオチド配列、三重らせん、および生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むがこれらに限定されるわけではないDNAおよびRNAポリヌクレオチド) 、抗体、合成または天然の無機分子、模倣剤、および合成または天然の有機分子が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。特定の態様では、化学療法薬には、アルキル化剤、アントラサイクリン、細胞骨格破壊剤 (タキサン) 、エポチロン、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、キナーゼ阻害剤、ヌクレオチド類似体および前駆体類似体、ペプチド系抗生物質、白金系の剤、ならびにビンカアルカロイドおよび誘導体が含まれる。

10

20

30

40

【 0 1 0 6 】

特定の態様では、病変は、インビオで遺伝子操作された細胞を調節するために化学療法剤を投与することによって治療および/または破壊される。化学療法剤には、アバレリックス、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アミフォスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、BCG生菌、ベバシズマブ、ベキサロテン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カルステロン、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチニン、カルムスチン、セレコキシブ、セツキシマブ、クロラムブシリ、シナカルセト、シスプラチニン、クラドリビン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダルベポエチンアルファ、ダウノルビシン、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロモスタノロン、エリオットB液、エピルビシン、エポエチンアルファ、エストラムスチン、エトボシド、エキセメスタン、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ゲフィチニブ、ゴセレリン、ヒドロキシ尿素、イブリツモマブチウキセタン、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブ、インターフェロン -2a 、インターフェロン -2b 、イリノテカン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミゾール、ロムスチン、メクロレタミン、メゲストロール、メルファラン、メルカブトブリニン、メスナ、メトレキサート、メトキサレン、メチルプレドニゾロン、マイトマイシンC、ミトタン、ミトキサントロン、ナンドロロン、ノフェツモマブ、オブリメルセン、オブレルベキン、オキサリプラチニン、パクリタキセル、パミドロネート、ベガデマーゼ、ベガスバルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド、ペントスタチン、ピポブロマン、ブリカマイシン、ポリフェプロサン、ポルフィマー、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タルク、タモキシフェン、タルセバ、テモゾロミド、テニポシド、テストラクトン、チオグアニン、チオテバ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツズマブ、トレチノイン、ウラシルマスター、バルルビシン、ビンプラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン、およびゾレドロネートが含まれ得るが、これらに限定されるわけではない。

40

【 0 1 0 7 】

C. 遺伝子操作された細胞の再拡大

いくつかの態様では、提供される方法は、対象における操作された細胞の再拡大を促進

50

し、これは、いくつかの場合には、治療および/または破壊前の拡大の初期ピークレベルをはるかに上回り得る。いくつかの態様では、提供される方法は、遺伝子操作された細胞のピークレベルが低下したかまたは検出不可能であるときに、遺伝子操作されたT細胞の拡大および/または持続性を調節する。いくつかの態様では、再拡大するように誘導された遺伝子操作細胞は、それが投与される対象においてより良好な効力を示す。

【0108】

CAR + T細胞をモニタリングまたは検出する方法は公知であり、例示的な方法は第IV.C章に記載されている。いくつかの態様では、投与された細胞の拡大の程度または範囲は、対象への投与後に検出または定量化することができる。例えば、いくつかの局面では、定量的PCR (qPCR) を用いて、対象の血液または血清または器官または組織（例えば疾患部位）中のキメラ受容体を発現する細胞（例えばCAR発現細胞）の量を評価する。いくつかの局面では、操作された細胞の数を含む拡大は、DNA 1マイクログラムの当たりの受容体、例えばCARをコードするDNAもしくはプラスミドのコピーとして、または例えば血液もしくは血清の試料1マイクロリットル当たりの、または試料1マイクロリットル当たりの末梢血単核細胞 (PBMC) もしくは白血球もしくはT細胞の総数当たりの、受容体発現細胞、例えばCAR発現細胞の数として定量化される。いくつかの態様では、一般に受容体に特異的な抗体を用いて受容体を発現する細胞を検出するフローサイトメトリー・アッセイも実施することができる。細胞ベースのアッセイも、疾患もしくは状態の細胞に結合するおよび/もしくはそれを中和するおよび/もしくはそれに対する応答、例えば細胞傷害性応答を誘導することができる、または受容体によって認識された抗原を発現することができる細胞などの、機能的細胞の数または割合を検出するために使用し得る。そのような態様のいずれにおいても、組換え受容体に関連する別のマーカー（例えばCAR発現細胞）の発現の程度またはレベルを用いて、投与された細胞を対象の内因性細胞から区別することができる。

10

20

30

【0109】

いくつかの態様では、提供される方法に従って病変を破壊することは、細胞、例えばT細胞療法のために投与されたT細胞の拡大および/または長期的な持続性を促進することなどによって、それらの細胞の活性化、再拡大および/または細胞への対象の曝露の増加を促進する。いくつかの態様では、T細胞療法は、T細胞療法が病変の破壊なしで対象に投与される方法と比較して、対象において、またはそのように治療された複数の対象において平均して、拡大および/または持続性の増大または延長を示す。いくつかの態様では、インビボで病変を破壊することを含む提供される方法は、病変の破壊を伴わないT細胞単独の投与と比較して、対象において、またはそのように治療された複数の対象において平均して、細胞、例えばT細胞療法のために投与されたT細胞への曝露の最大値、総量、および/または持続時間を増加させることができる。そのような増加は、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、6.0倍、7.0倍、8.0倍、9.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、もしくはそれ以上、または約もしくは少なくとも約1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、6.0倍、7.0倍、8.0倍、9.0倍、10.0倍、20.0倍、30.0倍、40.0倍、50.0倍、もしくはそれ以上であり得る。

【0110】

いくつかの態様では、提供される方法によって達成される投与された細胞への対象の曝露の増加（例えば細胞数の増加または期間の延長）は、免疫療法、例えばT細胞療法の効果および治療転帰を改善する。いくつかの局面では、この方法は、組換え受容体を発現する細胞、例えばCAR発現細胞へのより大きなおよび/またはより長い程度の曝露が、他の方法と比較して治療転帰を改善するという点で有利である。そのような転帰は、重度の腫瘍量を有する個体においてさえも、患者の生存および寛解を含み得る。いくつかの局面では、病変の治療および/または破壊後に達成される、対象における、またはそのように治療された複数の対象における平均での、細胞の投与の拡大および/または持続性の増加または延長は、対象における腫瘍関連転帰の恩恵に結びつく。いくつかの態様では、腫瘍関連転帰は、対象における腫瘍量の減少または骨髄芽球の減少を含む。いくつかの態様では、腫瘍量は、この方法の投与後に10、20、30、40、50、60、70、80、90、もしくは100%、

40

50

または少なくとももしくは少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、もしくは100%だけ減少する。いくつかの態様では、疾患負荷、腫瘍サイズ、腫瘍体積、腫瘍量、および/または腫瘍負荷もしくは嵩は、病変を破壊することを含まない方法で治療された対象、またはそのように治療された複数の対象の平均と比較して、細胞の投与後に少なくともまたは少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%またはそれ以上減少する。

【0111】

いくつかの態様では、提供される方法は、対象が別の療法に対して抵抗性になった、および/または組換え受容体発現細胞、例えばCAR+T細胞などの操作された細胞の投与後に再発したにもかかわらず、対象を有効に治療する。いくつかの態様では、有効な治療について評価される基準は、全奏効率(ORR)、完全奏効(CR)、奏効期間(DOR)、無増悪生存期間(PFS)、および/または全生存期間(OS)を含む。いくつかの態様では、本発明の方法および使用は、病変を破壊することを含まない方法と比較して、対象において、またはそのように治療された複数の対象において平均して、より持続的な応答を提供または達成する。提供される方法のいずれかの特定の態様では、提供される方法に従って病変を破壊した後および/または薬理学的剤もしくは治療薬を投与した後、応答、例えばORRまたはCRは、3ヶ月超、6ヶ月超、12ヶ月超、18ヶ月超、24ヶ月超、30ヶ月超、36ヶ月超またはそれ以上持続する。

【0112】

II. 細胞療法および操作された細胞

提供される治療方法は、組換え受容体を発現する細胞、およびその組成物を対象、例えば患者に投与することを含む。いくつかの態様では、細胞は、操作された受容体、例えばキメラ抗原受容体(CAR)などの操作された抗原受容体、またはT細胞受容体(TCR)を含むか、または含むように操作されている。細胞は、そのような細胞の集団、そのような細胞を含むおよび/またはそのような細胞が濃縮された組成物、例えばT細胞またはCD8⁺もしくはCD4⁺細胞などの特定の種類の細胞が濃縮または選択されている組成物を含む。組成物の中には、養子細胞療法のためなどの、投与のための薬学的組成物および製剤がある。

【0113】

いくつかの態様では、細胞は、遺伝子操作によって導入された1つまたは複数の核酸を含み、それによってそのような核酸の組換え産物または遺伝子操作された産物を発現する。いくつかの態様では、遺伝子導入は、例えばサイトカインまたは活性化マーカーの発現によって測定されるように、細胞の増殖、生存、および/または活性化などの応答を誘導する刺激と組み合わせることなどによって、最初に細胞を刺激し、続いて活性化した細胞を形質導入し、培養下で臨床適用に十分な数まで増殖させることによって達成される。

【0114】

遺伝子操作された成分、例えば抗原受容体、例えばCARを導入するための様々な方法は周知であり、提供される方法および組成物と共に使用し得る。例示的な方法としては、ウイルス、例えばレトロウイルスまたはレンチウイルス、形質導入、トランスポゾン、およびエレクトロポレーションを介することを含む、受容体をコードする核酸の導入のための方法が挙げられる。

【0115】

A. 組換え受容体

細胞は概して、機能的非TCR抗原受容体を含む抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体(CAR)、およびトランスジェニックT細胞受容体(TCR)のような他の抗原結合受容体などの、組換え受容体を発現する。受容体の中にはまた、キメラ自己抗体受容体(CAAR)などの他のキメラ受容体もある。

【0116】

1. キメラ抗原受容体(CAR)

いくつかの態様では、組換え受容体はキメラ抗原受容体(CAR)を含む。いくつかの態様では、CARは、特定の細胞型の表面に発現される抗原などの特定の抗原(またはマーカー

10

20

30

40

50

ーもしくはリガンド)に特異的である。いくつかの態様では、抗原はポリペプチドである。いくつかの態様では、抗原は炭水化物または他の分子である。いくつかの態様では、抗原は、正常または非標的細胞または組織と比較して、疾患または状態の細胞、例えば腫瘍または病原性細胞上に選択的に発現されるかまたは過剰発現される。他の態様では、抗原は正常細胞上に発現され、および/または操作された細胞上に発現される。

【0117】

特定の態様では、キメラ受容体などの組換え受容体は、T細胞における一次活性化シグナルを誘導することができる細胞質(細胞内)領域などの細胞質シグナル伝達ドメイン(互換的に細胞内シグナル伝達ドメインとも呼ばれる)、例えばT細胞受容体(TCR)成分の細胞質シグナル伝達ドメイン(例えばCD3-ゼータ(CD3 ζ)鎖のゼータ鎖の細胞質シグナル伝達ドメインまたはその機能的変異体もしくはシグナル伝達部分)を含む、および/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)を含む、細胞内シグナル伝達領域を含有する。

10

【0118】

いくつかの態様では、キメラ受容体は、抗原(またはリガンド)に特異的に結合する細胞外結合ドメインをさらに含む。いくつかの態様では、キメラ受容体は、抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインを含むCARである。いくつかの態様では、抗原(またはリガンド)は、細胞の表面上に発現されるタンパク質である。いくつかの態様では、CARはTCR様CARであり、抗原は、細胞内タンパク質のペプチド抗原などのプロセシングされたペプチド抗原であり、これは、TCRのように、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)分子に関連して細胞表面上で認識される。

20

【0119】

CARを含む例示的な抗原受容体、およびそのような受容体を操作して細胞に導入するための方法は、例えば国際公開公報第200014257号、同第2013126726号、同第2012/129514号、同第2014031687号、同第2013/166321号、同第2013/071154号、同第2013/123061号、米国特許出願公開第2002131960号、同第2013287748号、同第20130149337号、米国特許第6,451,995号、同第7,446,190号、同第8,252,592号、同第8,339,645号、同第8,398,282号、同第7,446,179号、同第6,410,319号、同第7,070,995号、同第7,265,209号、同第7,354,762号、同第7,446,191号、同第8,324,353号、および同第8,479,118号、および欧州特許出願公開第2537416号に記載されているもの、ならびに/またはSadelain et al., Cancer Discov. 2013 April; 3 (4) :388-398; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8 (4) :e61338; Turtle et al., Curr. Opin. Immunol., 2012 October; 24 (5) :633-39; Wu et al., Cancer, 2012 March 18 (2) :160-75によって記載されているものを含む。いくつかの局面では、抗原受容体は、米国特許第7,446,190号に記載されているCAR、および国際公開公報第2014055668 A1号に記載されているものを含む。CARの例としては、国際公開公報第2014031687号、米国特許第8,339,645号、同第7,446,179号、米国特許出願公開第2013/0149337号、米国特許第7,446,190号、同第8,389,282号、Kochenderfer et al., 2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276 (2013); Wang et al. (2012) J. Immunother. 35 (9) :689-701; およびBrentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5 (177) などの前述の刊行物のいずれかに開示されているCARが挙げられる。国際公開公報第2014031687号、米国特許第8,339,645号、同第7,446,179号、米国特許出願公開第2013/0149337号、米国特許第7,446,190号、および米国特許第8,389,282号も参照のこと。CARなどのキメラ受容体は、通常、抗体分子の一部などの細胞外抗原結合ドメイン、通常は抗体の可変重(VH)鎖領域および/または可変軽(VL)鎖領域、例えばscFv抗体断片を含む。

30

【0120】

いくつかの態様では、受容体によって標的とされる抗原はポリペプチドである。いくつかの態様では、抗原は炭水化物または他の分子である。いくつかの態様では、抗原は、正常または非標的細胞または組織と比較して、疾患または状態の細胞、例えば腫瘍または病原性細胞上に選択的に発現されるかまたは過剰発現される。他の態様では、抗原は正常細胞上に発現され、および/または操作された細胞上に発現される。

40

50

【0121】

いくつかの態様では、CARは、養子療法によって標的とされる特定の細胞型で発現される抗原、例えば癌マーカー、および/または正常細胞型もしくは非罹患細胞型で発現される抗原などの抑制応答を誘導することが意図されている抗原などの、特定の抗原（またはマーカーまたはリガンド）に対する特異性を備えて構築される。したがって、CARは、典型的には、その細胞外部分に、1つもしくは複数の抗原結合断片、ドメイン、もしくは部分、または1つもしくは複数の抗体可変ドメインなどの1つまたは複数の抗原結合分子、および/または抗体分子を含む。いくつかの態様では、CARは、モノクローナル抗体（mAb）の可変重鎖（VH）および可変軽鎖（VL）に由来する一本鎖抗体断片（scFv）などの抗体分子の1つまたは複数の抗原結合部分を含む。

10

【0122】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合部分は、抗原受容体などの組換え受容体の一部として細胞上に発現される。抗原受容体の中には、キメラ抗原受容体（CAR）などの機能的非TCR抗原受容体がある。通常ペプチド-MHC複合体に対してTCR様特異性を示す抗体または抗原結合断片を含むCARは、TCR様CARとも称され得る。いくつかの態様では、TCR様CARのMHC-ペプチド複合体に特異的な細胞外抗原結合ドメインは、いくつかの局面ではリンカーおよび/または膜貫通ドメインを介して、1つまたは複数の細胞内シグナル伝達成分に連結される。いくつかの態様では、そのような分子は、典型的には、TCRなどの天然の抗原受容体を介するシグナル、および任意で、共刺激受容体と組み合わせたそのような受容体を介するシグナルを模倣または近似することができる。

20

【0123】

いくつかの態様では、キメラ受容体（例えばCAR）などの組換え受容体は、抗原（またはリガンド）に結合する、例えば特異的に結合するリガンド結合ドメインを含む。キメラ受容体によって標的とされる抗原の中には、養子細胞療法によって標的とされる疾患、状態、または細胞型に関連して発現されるものがある。疾患および状態には、血液癌、B、Tおよび骨髓性白血病、リンパ腫および多発性骨髓腫のようなリンパ腫、白血病、および/または骨髓腫などの免疫系の癌を含む癌および腫瘍を含む、増殖性、新生物性、および悪性の疾患および障害がある。

20

【0124】

いくつかの態様では、抗原（またはリガンド）はポリペプチドである。いくつかの態様では、抗原は炭水化物または他の分子である。いくつかの態様では、抗原（またはリガンド）は、正常または非標的細胞または組織と比較して、疾患または状態の細胞、例えば腫瘍または病原性細胞上に選択的に発現されるかまたは過剰発現される。

30

【0125】

いくつかの態様では、CARは、細胞の表面に発現される、無傷の抗原などの抗原を特異的に認識する抗体または抗原結合断片（例えばscFv）を含む。

【0126】

いくつかの態様において受容体によって標的とされる抗原は、オーファンチロシンキナーゼ受容体ROR1、tEGFR、Her2、L1-CAM、CD19、CD20、CD22、メソテリン、CEA、およびB型肝炎表面抗原、抗葉酸受容体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、EPHa2、ErbB2、3、もしくは4、FBP、胎児アセチルコリン受容体、GD2、GD3、HMW-MAA、IL-22R-1、IL-13R-2、kdr、軽鎖、ルイスY、L1細胞接着分子、MAGE-A1、メソテリン、MUC1、MUC16、PSCA、NKG2Dリガンド、NY-ESO-1、MART-1、gp100、胎児腫瘍性抗原、ROR1、TAG72、VEGF-R2、癌胎児性抗原（CEA）、前立腺特異抗原、PSMA、Her2/neu、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、エフリンB2、CD123、c-Met、GD-2、およびMAGE A3、CE7、ウィルムス腫瘍1（WT-1）、サイクリンA1（CCNA1）などのサイクリン、Gタンパク質共役受容体5D（GPCR5D）、および/またはビオチン化分子、および/またはHIV、HCV、HBVもしくは他の病原体によって発現される分子であるかまたはそれを含む。

40

【0127】

特定の態様では、操作された細胞は、抗原に結合する組換え受容体および/またはCARを

50

発現する。特定の態様では、抗原は、 ν 6インテグリン (avb6インテグリン)、B細胞成熟抗原 (BCMA)、B7-H3、B7-H6、炭酸アンヒドラーーゼ9 (CA9、CAIXまたはG250としても知られる)、癌精巣抗原、癌/精巣抗原1B (CTAG、NY-ESO-1およびLAGE-2としても知られる)、癌胎児性抗原 (CEA)、サイクリン、サイクリンA2、C-Cモチーフケモカインリガンド1 (CCL-1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、上皮成長因子タンパク質 (EGFR)、切断型上皮成長因子タンパク質 (tEGFR)、上皮成長因子受容体III型変異体 (EGFR vIII)、上皮糖タンパク質2 (EPG-2)、上皮糖タンパク質40 (EPG-40)、エフリンB2、エフリン受容体A2 (EPHa2)、エストロゲン受容体、Fc受容体様5 (FCRL5；Fc受容体ホモログ5またはFCRH5としても知られる)、胎児アセチルコリン受容体 (胎児AchR)、葉酸結合タンパク質 (FBP)、葉酸受容体¹⁰、胎児アセチルコリン受容体、ガングリオシドGD2、O-アセチル化GD2 (OGD2)、ガングリオシドGD3、糖タンパク質100 (gp100)、Her2/neu (受容体チロシンキナーゼerbB2)、Her3 (erb-B3)、Her4 (erb-B4)、erbB二量体、ヒト高分子量黒色腫関連抗原 (HMW-MAA)、B型肝炎表面抗原、ヒト白血球抗原A1 (HLA-A1)、ヒト白血球抗原A2 (HLA-A2)、IL-22受容体 (IL-22R)、IL-13受容体²⁰ (IL-13R²)、キナーゼインサートドメイン受容体 (kdr)、軽鎖、L1細胞接着分子 (L1CAM)、L1-CAMのCE7エピトープ、ロイシンリッチリピート含有8ファミリーメンバーA (LRRC8A)、ルイスY、黒色腫関連抗原 (MAGE) -A1、MAGE-A3、MAGE-A6、メソテリン、c-Met、マウスサイトメガロウイルス (CMV)、ムチン1 (MUC1)、MUC16、ナチュラルキラーグループ2メンバーD (NKG2D) リガンド、メランA (MART-1)、神経細胞接着分子 (NCAM)、胎児腫瘍性抗原、黒色腫の優先発現抗原 (PRAME)、プロゲステロン受容体、前立腺特異抗原、前立腺幹細胞抗原 (PSCA)、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1)、サバイン、栄養膜糖タンパク質 (TPBG、5T4としても知られる)、腫瘍関連糖タンパク質72 (TAG72)、血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR)、血管内皮増殖因子受容体2 (VEGFR2)、³⁰ ウィルムス腫瘍1 (WT-1)、Gタンパク質共役受容体5D (GPCR5D)、病原体特異的抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、および/またはビオチン化分子、および/またはHIV、HCV、HBVもしくは他の病原体によって発現される分子である。いくつかの態様において受容体によって標的とされる抗原は、多くの公知のB細胞マーカーのいずれかなどの、B細胞悪性腫瘍に関連する抗原を含む。いくつかの態様では、抗原は、CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Ig⁺、Ig⁻、CD79a、CD79bまたはCD30であるかまたはそれを含む。

【0128】

いくつかの態様では、CARは病原体特異的抗原または病原体発現抗原に結合する。いくつかの態様では、CARは、ウイルス抗原 (例えばHIV、HCV、HBV等)、細菌抗原、および/または寄生虫抗原に特異的である。

【0129】

いくつかの態様では、CARは、細胞表面にMHC-ペプチド複合体として提示される腫瘍関連抗原のような細胞内抗原を特異的に認識する抗体または抗原結合断片 (例えばscFv) などのTCR様抗体を含む。いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体を認識する抗体またはその抗原結合部分は、抗原受容体などの組換え受容体の一部として細胞上に発現され得る。抗原受容体の中には、キメラ抗原受容体 (CAR) などの機能的非TCR抗原受容体がある。通常ペプチド-MHC複合体に対してTCR様の特異性を示す抗体または抗原結合断片を含むCARは、TCR様CARとも称され得る。

【0130】

「主要組織適合遺伝子複合体」 (MHC) への言及は、いくつかの場合には、細胞機構によって処理されたペプチド抗原を含むポリペプチドのペプチド抗原と複合体を形成することができる多型ペプチド結合部位または結合溝を含むタンパク質、通常糖タンパク質を指す。いくつかの場合には、MHC分子は、TCRまたはTCR様抗体などの、T細胞上の抗原受容体が認識可能な立体配座で抗原を提示するために、ペプチドとの複合体、すなわちMHC-ペプチド複合体としてを含めて、細胞表面上に表示または発現され得る。通常MHCクラスI分子⁴⁰

10

20

30

40

50

は、いくつかの場合には3つのドメインを備える膜貫通鎖、および非共有結合した2ミクログロブリンを有するヘテロ二量体である。通常MHCクラスII分子は、2つの膜貫通糖タンパク質、およびから構成され、それらは両方とも、典型的には膜を貫通している。MHC分子は、ペプチドに結合するための1つまたは複数の抗原結合部位および適切な抗原受容体による認識に必要な配列を含むMHCの有効部分を含み得る。いくつかの態様では、MHCクラスI分子は、サイトゾルに由来するペプチドを細胞表面に送達し、そこでMHC-ペプチド複合体は、通常CD8⁺ T細胞であるが、いくつかの場合にはCD4⁺ T細胞などのT細胞によって認識される。いくつかの態様では、MHCクラスII分子は、小胞系に由来するペプチドを細胞表面に送達し、そこでそれらは、典型的にはCD4⁺ T細胞によって認識される。通常MHC分子は、マウスではH-2、ヒトではヒト白血球抗原（HLA）と総称される一群の連鎖する遺伝子座によってコードされる。したがって、典型的には、ヒトMHCはヒト白血球抗原（HLA）とも称され得る。

10

【0131】

「MHC-ペプチド複合体」または「ペプチド-MHC複合体」という用語またはその変形は通常、MHC分子の結合溝または裂におけるペプチドの非共有相互作用などによる、ペプチド抗原とMHC分子との複合体または結合を指す。いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体は細胞の表面に存在するかまたは表示される。いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体は、TCR、TCR様CAR、またはその抗原結合部分などの抗原受容体によって特異的に認識され得る。

20

【0132】

いくつかの態様では、ペプチド抗原またはエピトープなどのポリペプチドのペプチドは、抗原受容体による認識などのために、MHC分子と結合することができる。通常ペプチドは、ポリペプチドまたはタンパク質などのより長い生物学的分子の断片に由来するかまたはそれに基づく。いくつかの態様では、ペプチドは、典型的には長さが約8～約24アミノ酸である。いくつかの態様では、ペプチドは、MHCクラスII複合体における認識のために9～22アミノ酸または約9～22アミノ酸の長さを有する。いくつかの態様では、ペプチドは、MHCクラスI複合体における認識のために8～13アミノ酸または約8～13アミノ酸の長さを有する。いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体などのMHC分子の状況でペプチドを認識すると、TCRまたはTCR様CARなどの抗原受容体は、T細胞増殖、サイトカイン産生、細胞傷害性T細胞応答または他の応答などのT細胞応答を誘導するT細胞への活性化シグナルを生成または誘発する。

30

【0133】

いくつかの態様では、TCR様抗体または抗原結合部分は、公知であるかまたは公知の方法によって生成することができる（例えば米国特許出願公開第2002/0150914号；同第2003/0223994号；同第2004/0191260号；同第2006/0034850号；同第2007/00992530号；同第2009226474号；同第20090304679号；および国際公開公報第03/068201号参照）。

【0134】

いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分は、特定のMHC-ペプチド複合体を含む有効量の免疫原で宿主を免疫することによって生成することができる。いくつかの場合には、MHC-ペプチド複合体のペプチドは、MHCに結合することができる抗原、例えば腫瘍抗原、例えばユニバーサル腫瘍抗原、骨髄腫抗原、または以下に記載される他の抗原のエピトープである。いくつかの態様では、次いで、免疫応答を惹起するために有効量の免疫原を宿主に投与し、ここで免疫原は、MHC分子の結合溝内のペプチドの三次元提示に対する免疫応答を惹起するのに十分な期間、その三次元形態を保持する。次いで、宿主から収集した血清を、MHC分子の結合溝内のペプチドの三次元提示を認識する所望の抗体が生成されているかどうかを決定するために検定する。いくつかの態様では、生成された抗体を、抗体が、MHC分子単独、関心対象のペプチド単独、およびMHCと無関係なペプチドとの複合体からMHC-ペプチド複合体を識別できることを確認するために評価することができる。その後所望の抗体を単離することができる。

40

【0135】

50

いくつかの態様では、MHC-ペプチド複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分は、ファージ抗体ライプラリなどの抗体ライプラリディスプレイ法を使用することによって作製できる。いくつかの態様では、例えば、ライプラリのメンバーが1つまたは複数のCDRの1つまたは複数の残基において変異している、変異型Fab、scFvまたは他の抗体型のファージディスプレイライプラリを作製することができる。例えば米国特許出願公開第20020150914号、同第2014/0294841号、およびCohen CJ. et al. (2003) *J Mol. Recogn.* 16:324-332参照。

【0136】

本明細書における「抗体」という用語は最も広い意味で使用され、無傷の抗体、ならびに断片抗原結合(Fab)断片、F(ab')₂断片、Fab'断片、Fv断片、組換えIgG(rIgG)断片、抗原に特異的に結合することができる可変重鎖(V_H)領域、一本鎖可変断片(scFv)を含む一本鎖抗体断片、および單一ドメイン抗体(例えばsdAb、sdFv、ナノボディ)断片を含む機能的(抗原結合)抗体断片を含む、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体を含む。この用語は、遺伝子操作されたおよび/または他の方法で修飾された形態の免疫グロブリン、例えばイントラボディ、ペプチボディ、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、およびヘテロコンジュゲート抗体、多重特異性、例えば二重特異性抗体、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディ、タンデムdi-scFv、タンデムtri-scFvを包含する。特に明記されない限り、「抗体」という用語はその機能的抗体断片を包含すると理解されるべきである。この用語はまた、IgGおよびそのサブクラス、IgM、IgE、IgA、およびIgDを含む任意のクラスまたはサブクラスの抗体を含む、無傷または完全長抗体を包含する。

【0137】

いくつかの態様では、抗原結合タンパク質、抗体、およびその抗原結合断片は、完全長抗体の抗原を特異的に認識する。いくつかの態様では、抗体の重鎖および軽鎖は完全長であり得るか、または抗原結合部分(Fab、F(ab')₂、Fvまたは一本鎖Fv断片(scFv))であり得る。他の態様では、抗体重鎖定常領域は、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD、およびIgEから選択され、特に、例えばIgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4から、より具体的にはIgG1(例えばヒトIgG1)から選択される。別の態様では、抗体軽鎖定常領域は、例えば または 、特に から選択される。

【0138】

提供される抗体の中には抗体断片がある。「抗体断片」とは、無傷の抗体が結合する抗原に結合する無傷の抗体の一部を含む、無傷の抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディ；直鎖抗体；可変重鎖(V_H)領域、scFvおよび單一ドメインV_H單一抗体などの一本鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されるわけではない。特定の態様では、抗体は、scFvなどの可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む一本鎖抗体断片である。

【0139】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体の抗原への結合に関与する抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン(それぞれV_HおよびV_L)は概ね類似の構造を有し、各ドメインは4つの保存されたフレームワーク領域(FR)および3つのCDRを含む。(例えばKindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007) 参照。) 単一のV_HまたはV_Lドメインが、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体を、抗原に結合する抗体由来のV_HまたはV_Lドメインを用いて単離して、それぞれ相補的V_LまたはV_Hドメインのライプラリをスクリーニングしてもよい。例えばPortolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993) ; Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991) 参照。

【0140】

單一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部、または軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部を含む抗体断片である。特定の態様では、單一ドメイン抗体は

10

20

30

40

50

ヒト単一ドメイン抗体である。いくつかの態様では、CARは、抗原、例えば癌マーカーまたは標的とされる細胞もしくは疾患、例えば腫瘍細胞もしくは癌細胞の細胞表面抗原、例えば本明細書に記載されるかまたは公知の標的抗原のいずれかに特異的に結合する抗体重鎖ドメインを含む。

【0141】

抗体断片は、無傷の抗体のタンパク質分解消化ならびに組換え宿主細胞による產生を含むがこれらに限定されるわけではない、様々な技術によって作製することができる。いくつかの態様では、抗体は、合成リンカー、例えばペプチドリンカーによって連結された2つもしくはそれ以上の抗体領域もしくは鎖を有するものなどの、天然には生じない配置を含む断片、および/または天然の無傷の抗体の酵素消化によっては生成され得ない断片などの、組換えによって生成された断片である。いくつかの態様では、抗体断片はscFvである。

10

【0142】

「ヒト化」抗体は、すべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が非ヒトCDRに由来し、すべてまたは実質的にすべてのFRアミノ酸残基がヒトFRに由来する抗体である。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。非ヒト抗体の「ヒト化型」は、親の非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、典型的にはヒトに対する免疫原性を低下させるために、ヒト化を受けた非ヒト抗体の変異体を指す。いくつかの態様では、ヒト化抗体中のいくつかのFR残基は、例えば抗体特異性または親和性を回復または改善するために、非ヒト抗体（例えばCDR残基が由来する抗体）からの対応する残基で置換される。

20

【0143】

したがって、いくつかの態様では、TCR様CARを含むキメラ抗原受容体は、抗体または抗体断片を含む細胞外部分を含有する。いくつかの態様では、抗体または断片はscFvを含む。いくつかの局面では、キメラ抗原受容体は、抗体または断片を含む細胞外部分と細胞内シグナル伝達領域とを含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達領域は細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン、T細胞において一次活性化シグナルを誘導することができるシグナル伝達ドメイン、T細胞受容体（TCR）成分のシグナル伝達ドメイン、および/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含むシグナル伝達ドメインであるかまたはそれを含む。

30

【0144】

いくつかの態様では、組換え受容体、例えばCARの抗体部分を含む、CARなどの組換え受容体は、ヒンジ領域、例えばIgG4ヒンジ領域、ならびに/またはC_H1/C_Lおよび/もしくはFc領域などの免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部をさらに含む。いくつかの態様では、その抗体部分を含むCARなどの組換え受容体は、スペーサーをさらに含み、これは、ヒンジ領域、例えばIgG4ヒンジ領域、ならびに/またはC_H1/C_Lおよび/もしくはFc領域などの、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部またはその変異体もしくは修飾型であり得るかまたはそれを含み得る。いくつかの態様では、組換え受容体はスペーサーおよび/またはヒンジ領域をさらに含む。いくつかの態様では、定常領域またはその部分は、IgG4またはIgG1などのヒトIgGのものである。いくつかの局面では、定常領域の一部は、抗原認識成分、例えばscFvと膜貫通ドメインとの間のスペーサー領域として機能する。スペーサーは、スペーサーが存在しない場合と比較して、抗原結合後の細胞の応答性の増大をもたらす長さのものであり得る。例示的なスペーサー、例えばヒンジ領域は、国際公開公報第2014031687号に記載されているものを含む。いくつかの例では、スペーサーは、12アミノ酸もしくは約12アミノ酸の長さであるか、または12アミノ酸未満の長さである。例示的なスペーサーとしては、少なくとも約10～229個のアミノ酸、約10～200個のアミノ酸、約10～175個のアミノ酸、約10～150個のアミノ酸、約10～125個のアミノ酸、約10～100個のアミノ酸、約10～75個のアミノ酸、約10～50個のアミノ酸、約10～40個のアミノ酸、約10～30個のアミノ酸、約10～20個のアミノ酸、または約10～15個のアミノ酸を有する、および列

40

50

挙された範囲のいずれかの両端の値の間の任意の整数個のアミノ酸を含むものが挙げられる。いくつかの態様では、スペーサー領域は、約12個もしくはそれ未満のアミノ酸、約119個もしくはそれ未満のアミノ酸、または約229個もしくはそれ未満のアミノ酸を有する。例示的なスペーサーには、IgG4ヒンジ単独、C_H2およびC_H3ドメインに連結されたIgG4ヒンジ、またはCH3ドメインに連結されたIgG4ヒンジを含む。例示的なスペーサーとしては、Hudecek et al., (2013) Clin.Cancer Res., 19:3153、国際公開公報第2014031687号、米国特許第8,822,647号、または米国特許出願公開第2014/0271635号に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【0145】

いくつかの態様では、定常領域またはその部分は、IgG4またはIgG1などのヒトIgGのものである。いくつかの態様では、スペーサーは、配列ESKGPPCPCP (SEQ ID NO:1に示す)を有し、SEQ ID NO:2に示す配列によってコードされる。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:3に示す配列を有する。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:4に示す配列を有する。いくつかの態様では、定常領域またはその部分はIgDのものである。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:5に示す配列を有する。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:1、3、4または5のいずれかと少なくともまたは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を有する。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:26~34に示す配列を有する。いくつかの態様では、スペーサーは、SEQ ID NO:26~34のいずれかと少なくともまたは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を有する。

10

20

30

40

50

【0146】

この抗原認識ドメインは通常、CARの場合には、TCR複合体などの抗原受容体複合体を介して活性化を模倣するシグナル伝達成分、および/または別の細胞表面受容体を介するシグナルなどの、1つまたは複数の細胞内シグナル伝達成分に連結されている。したがって、いくつかの態様では、抗原結合成分(例えば抗体)は、1つまたは複数の膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域に連結されている。いくつかの態様では、膜貫通ドメインは細胞外ドメインに融合されている。一態様では、受容体、例えばCAR中のドメインの1つと天然に関連している膜貫通ドメインが使用される。いくつかの場合には、膜貫通ドメインは、同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへのそのようなドメインの結合を回避して、受容体複合体の他の成員との相互作用を最小限に抑えるように選択されるかまたはアミノ酸置換によって改変される。

【0147】

いくつかの態様における膜貫通ドメインは、天然の供給源または合成供給源のいずれかに由来する。供給源が天然である場合、いくつかの局面におけるドメインは、任意の膜結合または膜貫通タンパク質に由来する。膜貫通領域には、T細胞受容体、CD28、CD3、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154の鎖、鎖、または鎖に由来する(すなわち少なくともその膜貫通領域含む)ものが含まれる。あるいは、いくつかの態様における膜貫通ドメインは合成である。いくつかの局面では、合成膜貫通ドメインは、ロイシンおよびバリンなどの疎水性残基を主に含む。いくつかの局面では、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが合成膜貫通ドメインの各末端に見出される。いくつかの態様では、結合は、リンカー、スペーサー、および/または膜貫通ドメインによる。

【0148】

細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域の中には、天然の抗原受容体を介するシグナル、共刺激受容体と合わせてそのような受容体を介するシグナル、および/または共刺激受容体のみを介するシグナルを模倣するまたはそれらに近似するものがある。いくつかの態様では、短いオリゴペプチドリンカーまたはポリペプチドリンカー、例えばグリシンおよびセリンを含むもの、例えばグリシン-セリンダブレットなどの2~10アミノ酸長のリンカ

ーが存在し、CARの膜貫通ドメインと細胞質シグナル伝達ドメインまたは領域との間に結合を形成する。

【0149】

受容体、例えばCARは、通常少なくとも1つの細胞内シグナル伝達成分を含む。いくつかの態様では、受容体は、T細胞活性化および細胞毒性を媒介するTCR CD3鎖、例えばCD3鎖などのTCR複合体の細胞内成分を含む。したがって、いくつかの局面では、抗原結合部分は1つまたは複数の細胞シグナル伝達モジュールに連結されている。いくつかの態様では、細胞シグナル伝達モジュールは、CD3膜貫通ドメイン、CD3細胞内シグナル伝達ドメイン、および/または他のCD膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様では、受容体、例えばCARは、Fc受容体、CD8、CD4、CD25またはCD16などの1つまたは複数の追加の分子の一部をさらに含む。例えば、いくつかの局面では、CARまたは他のキメラ受容体は、CD3-ゼータ(CD3 ζ)またはFc受容体とCD8、CD4、CD25またはCD16との間のキメラ分子を含む。

10

【0150】

いくつかの態様では、CARまたは他のキメラ受容体の連結時に、受容体の細胞質ドメインまたは細胞内シグナル伝達ドメインもしくは領域は、正常なエフェクター機能または免疫細胞、例えばCARを発現するように操作されたT細胞の応答の少なくとも1つを活性化する。例えば、いくつかの状況では、CARは、T細胞の機能、例えば細胞溶解活性またはTヘルパー活性、例えばサイトカインまたは他の因子の分泌を誘導する。いくつかの態様では、抗原受容体成分または共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域の末端切断された部分は、例えばそれがエフェクター機能シグナルを伝達する場合、無傷の免疫刺激鎖の代わりに使用される。いくつかの態様では、1つまたは複数の細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域は、T細胞受容体(TCR)の細胞質配列、およびいくつかの局面では、天然の状況でそのような受容体と協調的に作用して、抗原受容体結合後にシグナル伝達を開始する共受容体のもの、および/またはそのような分子の任意の誘導体もしくは変異体、および/または同様の機能的能力を有する合成配列も含む。

20

【0151】

天然のTCRに関連して、完全な活性化は通常、TCRを介したシグナル伝達だけでなく、共刺激シグナルも必要とする。したがって、いくつかの態様では、完全な活性化を促進するために、二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための成分もCARに含まれる。他の態様では、CARは共刺激シグナルを生成するための成分を含まない。いくつかの局面では、追加のCARが同じ細胞中で発現され、二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための成分を提供する。

30

【0152】

T細胞活性化は、いくつかの局面では、2つのクラスの細胞質シグナル伝達配列:TCRを介して抗原依存性の一次活性化を開始するもの(一次細胞質シグナル伝達配列)、および抗原非依存的に作用して二次または共刺激シグナルを提供するもの(二次細胞質シグナル伝達配列)によって媒介されると説明される。いくつかの局面では、CARはそのようなシグナル伝達成分の一方または両方を含む。

40

【0153】

いくつかの局面では、CARは、TCR複合体の一次活性化を調節する一次細胞質シグナル伝達配列を含む。刺激性に作用する一次細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはITAMとして公知のシグナル伝達モチーフを含み得る。一次細胞質シグナル伝達配列を含むITAMの例には、TCR、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD8、CD22、CD79a、CD79bおよびCD66dに由来するものが含まれる。いくつかの態様では、CAR中の細胞質シグナル伝達分子は、細胞質シグナル伝達ドメインもしくは領域、その一部、またはCD3に由来する配列を含む。

【0154】

いくつかの態様では、CARは、CD28、4-1BB、OX40、DAP10、およびICOSなどの共刺激受容体のシグナル伝達ドメインもしくは領域および/または膜貫通部分を含む。いくつかの局面では、同じCARが活性化成分と共刺激成分の両方を含む。

50

【0155】

いくつかの態様では、活性化ドメインは1つのCAR内に含まれ、一方共刺激成分は、別の抗原を認識する別のCARによって提供される。いくつかの態様では、CARは、活性化または刺激性CAR、共刺激性CARを含み、両方とも同じ細胞上で発現される（国際公開公報第2014/055668号参照）。いくつかの局面では、細胞は、1つまたは複数の刺激性もしくは活性化CARおよび/または共刺激性CARを含む。いくつかの態様では、細胞は、阻害性CAR（iCAR、Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5 (215) (2013年12月) 参照）、例えば疾患または状態に関連するおよび/または特異的である抗原以外の抗原を認識するCARをさらに含み、それにより、疾患を標的とするCARを介して送達される活性化シグナルが、阻害性CARのそのリガンドへの結合によって低減または阻害され、例えばオフターゲット効果を減少させる。

10

【0156】

特定の態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3（例えばCD3）細胞内ドメインに連結されたCD28膜貫通ドメインおよびシグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 細胞内ドメインに連結された、キメラCD28およびCD137（4-1BB、TNFRSF9）共刺激ドメインを含む。

20

【0157】

いくつかの態様では、CARは、細胞質部分に1つまたは複数、例えば2つまたはそれ以上の共刺激ドメインおよび活性化ドメイン、例えば一次活性化ドメインを包含する。例示的なCARは、CD3、CD28、および4-1BBの細胞内成分を含む。

30

【0158】

いくつかの態様では、CARもしくは他の抗原受容体は、受容体を発現するための細胞の形質導入もしくは操作を確認するために使用し得る細胞表面マーカーなどのマーカー、例えば末端切断されたEGFR（tEGFR）などの短縮型の細胞表面受容体をさらに含む。いくつかの局面では、マーカーは、CD34、NGFR、または上皮増殖因子受容体（例えばtEGFR）の全部または一部（例えば短縮形態）を含む。いくつかの態様では、マーカーをコードする核酸は、切断可能なリンカー配列、例えばT2Aなどのリンカー配列をコードするポリヌクレオチドに機能的に連結されている。例えば、マーカー、および任意でリンカー配列は、国際特許出願公開番号2014031687号に開示されている任意のものであり得る。例えば、マーカーは、任意で、T2A切断可能リンカー配列などのリンカー配列に連結されている短縮型EGFR（tEGFR）であり得る。短縮型EGFR（例えばtEGFR）のための例示的なポリペプチドは、SEQ ID NO：7もしくは16に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：7もしくは16と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む。例示的なT2Aリンカー配列は、SEQ ID NO：6もしくは17に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：6もしくは17と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む。

30

【0159】

いくつかの態様では、マーカーは、天然ではT細胞上に見出されない、または天然ではT細胞の表面上に見出されない分子、例えば細胞表面タンパク質、またはその一部である。いくつかの態様では、分子は非自己分子、例えば非自己タンパク質、すなわち細胞が養子移入される宿主の免疫系によって「自己」として認識されないものである。

40

【0160】

いくつかの態様では、マーカーは、治療機能を果たさない、および/または遺伝子操作のため、例えば成功裏に操作された細胞を選択するためのマーカーとして使用されること以外には全く作用をもたらさない。他の態様では、マーカーは、治療分子または何らかの所望の作用を及ぼす分子、例えば、養子移入時またはリガンドとの遭遇時に細胞の応答を増強するおよび/または減弱させる共刺激分子または免疫チェックポイント分子などの、インビボで遭遇される細胞に対するリガンドであり得る。

50

【0161】

いくつかの場合には、CARは、第一、第二、および/または第三世代のCARと称される。いくつかの局面では、第一世代のCARは、抗原結合の際にCD3鎖誘導シグナルのみを提供するものである；いくつかの局面では、第二世代のCARは、そのようなシグナルと、CD28またはCD137などの共刺激受容体由来の細胞内シグナル伝達ドメインを含むものなどの共刺激シグナルとを提供するものである；いくつかの局面では、第三世代のCARは、異なる共刺激受容体の複数の共刺激ドメインを含むものである。

【0162】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、抗体または抗体断片を含む細胞外部分を含有する。いくつかの局面では、キメラ抗原受容体は、抗体または断片を含む細胞外部分と細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの態様では、抗体または断片はscFvを含み、細胞内ドメインはITAMを含む。いくつかの局面では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3-ゼータ(CD3 ζ)鎖の鎖のシグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、細胞外ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとを連結する膜貫通ドメインを含む。いくつかの局面では、膜貫通ドメインはCD28の膜貫通部分を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体はT細胞共刺激分子の細胞内ドメインを含む。細胞外ドメインと膜貫通ドメインは直接または間接的に連結され得る。いくつかの態様では、細胞外ドメインと膜貫通ドメインは、本明細書に記載されるものなどのスペーサーによって連結されている。いくつかの態様では、受容体は、膜貫通ドメインが由来する分子の細胞外部分、例えばCD28細胞外部分を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、T細胞共刺激分子またはその機能的変異体に由来する細胞内ドメインを、例えば膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとの間に含む。いくつかの局面では、T細胞共刺激分子はCD28または41BBである。

10

20

30

40

【0163】

いくつかの態様では、scFvはFMC63に由来する。FMC63は、ヒト起源のCD19を発現するNa⁺Im-1およびNa⁺Im-16細胞に対して惹起されたマウスモノクローナルIgG1抗体である(Ling, N.R., et al. (1987) Leucocyte typing III.302)。FMC63抗体は、それぞれSEQ ID NO:38および39に示すCDRH1およびH2、およびSEQ ID NO:40または54に示すCDRH3、およびSEQ ID NO:35に示すCDRL1、およびSEQ ID NO:36または55に示すCDRL2、およびSEQ ID NO:37または56に示すCDRL3を含む。FMC63抗体は、SEQ ID NO:41のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(V_H)およびSEQ ID NO:42のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(V_L)を含む。いくつかの態様では、svFvは、SEQ ID NO:35に示すCDRL1、SEQ ID NO:36もしくは55に示すCDRL2、およびSEQ ID NO:37もしくは56に示すCDRL3を含む可変軽鎖、ならびに/またはSEQ ID NO:38に示すCDRH1、SEQ ID NO:39に示すCDRH2、およびSEQ ID NO:40もしくは54に示すCDRH3を含む可変重鎖を含む。いくつかの態様では、scFvは、SEQ ID NO:41に示すFMC63の可変重鎖領域およびSEQ ID NO:42に示すFMC63の可変軽鎖領域を含む。いくつかの態様では、可変重鎖と可変軽鎖はリンカーによって接続されている。いくつかの態様では、リンカーはSEQ ID NO:24に示されている。いくつかの態様では、scFvは、順に、V_H、リンカー、およびV_Lを含む。いくつかの態様では、scFvは、順に、V_L、リンカー、およびV_Hを含む。いくつかの態様では、svFcは、SEQ ID NO:25に示すヌクレオチドの配列、またはSEQ ID NO:25と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列によってコードされる。いくつかの態様では、scFvは、SEQ ID NO:43に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:43と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。

30

40

【0164】

いくつかの態様では、scFvはSJ25C1に由来する。SJ25C1は、ヒト起源のCD19を発現するNa⁺Im-1およびNa⁺Im-16細胞に対して惹起されたマウスモノクローナルIgG1抗体である(Ling, N.R., et al. (1987) Leucocyte typing III.302)。SJ25C1抗体は、それぞれSEQ ID NO

50

：47～49に示すCDRH1、H2およびH3、ならびにそれぞれSEQ ID NO：44～46に示すCDRL1、L2およびL3配列を含む。SJ25C1抗体は、SEQ ID NO：50のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（V_H）およびSEQ ID NO：51のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（V_L）を含む。いくつかの態様では、svFvは、SEQ ID NO：44に示すCDRL1、SEQ ID NO：45に示すCDRL2、およびSEQ ID NO：46に示すCDRL3を含む可変軽鎖ならびに/またはSEQ ID NO：47に示すCDRH1、SEQ ID NO：48に示すCDRH2、およびSEQ ID NO：49に示すCDRH3を含む可変重鎖を含む。いくつかの態様では、scFvは、SEQ ID NO：50に示すSJ25C1の可変重鎖領域およびSEQ ID NO：51に示すSJ25C1の可変軽鎖領域を含む。いくつかの態様では、可変重鎖と可変軽鎖はリンカーポリマーによって接続されている。いくつかの態様では、リンカーポリマーはSEQ ID NO：52に示されている。いくつかの態様では、scFvは、順に、VH、リンカーポリマー、およびVLを含む。いくつかの態様では、scFvは、SEQ ID NO：53に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：53と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示す配列を含む。

10

【0165】

例えば、いくつかの態様では、CARは、抗体、例えば抗体断片、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかまたはそれを含む膜貫通ドメイン、ならびにCD28のシグナル伝達部分またはその機能的変異体およびCD3のシグナル伝達部分またはその機能的変異体を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、CARは、抗体、例えば抗体断片、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかまたはそれを含む膜貫通ドメイン、ならびに4-1BBのシグナル伝達部分またはその機能的変異体およびCD3のシグナル伝達部分またはその機能的変異体を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかのそのような態様では、受容体は、ヒトIg分子などのIg分子の一部、例えばIgヒンジ、例えばIgG4ヒンジを含むスペーサー、例えばヒンジのみのスペーサーをさらに含む。

20

【0166】

いくつかの態様では、組換え受容体、例えばCARの膜貫通ドメインは、ヒトCD28の膜貫通ドメイン（例えばアクセション番号P01747.1）またはその変異体、例えばSEQ ID NO：8に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：8と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む膜貫通ドメインであるかまたはそれを含む；いくつかの態様では、組換え受容体の膜貫通ドメイン含有部分は、SEQ ID NO：9に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：9と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を有するアミノ酸の配列、または例えばヒトCD28の27アミノ酸の膜貫通ドメインを含む。

30

【0167】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体はT細胞共刺激分子の細胞内ドメインを含む。いくつかの局面では、T細胞共刺激分子はCD28または4-1BBである。

【0168】

いくつかの態様では、組換え受容体、例えばCARの細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域もしくは成分は、ヒトCD28の細胞内共刺激シグナル伝達ドメインもしくは領域またはその機能的変異体もしくは部分、例えば天然CD28タンパク質の186～187位にLLからGGへの置換を有するドメインまたは領域を含む。例えば、いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域は、SEQ ID NO：10もしくは11に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：10もしくは11と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含み得る。いくつかの態様では、細胞内ドメインまたは領域は、4-1BBの細胞内共刺激シグナル伝達ドメインもしくは領域（例えばアクセション番号Q07011.1）またはその機能的変異体もしくは部分、例えばSEQ ID NO：12に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO：12と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%

40

50

%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列、または例えばヒト4-1BBの42アミノ酸の細胞質ドメインを含む。

【0169】

いくつかの態様では、組換え受容体、例えばCARの細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域は、ヒトCD3鎖、任意に刺激シグナル伝達ドメインもしくは領域またはその機能的変異体、例えばヒトCD3のアイソフォーム3の112アミノ酸の細胞質ドメインもしくは領域（アクセッション番号P20963.2）、または米国特許第7,446,190号もしくは同第8,911,93号に記載されているCD3シグナル伝達ドメインもしくは領域を含む。例えば、いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインまたは領域は、SEQ ID NO:13、14もしくは15に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:13、14もしくは15と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む。

10

【0170】

いくつかの局面では、スペーサーは、IgGのヒンジ領域のみ、例えばIgG4またはIgG1のヒンジのみ、例えばSEQ ID NO:1に示すヒンジのみのスペーサーを含む。他の態様では、スペーサーは、任意でC_H2および/またはC_H3ドメインに連結されたIgヒンジ、例えばIgG4由来のヒンジであるかまたはそれを含む。いくつかの態様では、スペーサーは、例えばSEQ ID NO:4に示すような、C_H2およびC_H3ドメインに連結されたIgヒンジ、例えばIgG4ヒンジである。いくつかの態様では、スペーサーは、例えばSEQ ID NO:3に示すような、C_H3ドメインのみに連結されたIgヒンジ、例えばIgG4ヒンジである。いくつかの態様では、スペーサーは、グリシン-セリンリッチ配列または他の柔軟なリンカー、例えば公知の柔軟なリンカーであるかまたはそれを含む。

20

【0171】

例えば、いくつかの態様では、CARは、scFvを含む抗体断片などの抗体、スペーサー、例えばヒンジ領域および/または重鎖分子の1つもしくは複数の定常領域などの免疫グロブリン分子の一部を含むスペーサー、例えばIgヒンジ含有スペーサー、CD28由来の膜貫通ドメインの全部または一部を含む膜貫通ドメイン、CD28由来の細胞内シグナル伝達ドメイン、ならびにCD3シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、CARは、抗体またはscFvなどの断片、任意のIgヒンジ含有スペーサーなどのスペーサー、CD28由来の膜貫通ドメイン、4-1BB由来の細胞内シグナル伝達ドメイン、およびCD3由来のシグナル伝達ドメインを含む。

30

【0172】

いくつかの態様では、そのようなCAR構築物をコードする核酸分子は、例えばCARをコードする配列の下流に、T2Aリボソームスキップエレメントおよび/またはtEGFR配列をコードする配列をさらに含む。いくつかの態様では、配列は、SEQ ID NO:6もしくは17に示すT2Aリボソームスキップエレメント、またはSEQ ID NO:6もしくは17と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列をコードする。いくつかの態様では、抗原受容体（例えばCAR）を発現するT細胞はまた、短縮型EGFR（EGFR_t）を非免疫原性選択エピトープとして発現するように生成することもでき（例えば同じ構築物から2つのタンパク質を発現するためにT2Aリボソームスイッチによって分離されたCARとEGFR_tをコードする構築物の導入によって）、これはその後、そのような細胞を検出するためのマーカーとして使用することができる（例えば米国特許第8,802,374号参照）。いくつかの態様では、配列は、SEQ ID NO:7もしくは16に示すtEGFR配列、またはSEQ ID NO:7もしくは16と少なくとももしくは少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列をコードする。

40

【0173】

対象に投与される細胞によって発現されるCARなどの組換え受容体は、通常、治療され

50

ている疾患もしくは状態またはその細胞において発現される、それに関連する、および/またはそれに対して特異的な分子を認識するまたはそれに特異的に結合する。分子、例えば抗原に特異的に結合すると、受容体は通常、ITAM形質導入シグナルなどの免疫刺激シグナルを細胞内に送達し、それによって疾患または状態を標的とする免疫応答を促進する。例えば、いくつかの態様では、細胞は、疾患もしくは状態の細胞もしくは組織によって発現されるか、または疾患もしくは状態に関連する抗原に特異的に結合するCARを発現する。

【0174】

2. T細胞受容体 (TCR)

いくつかの態様では、腫瘍の抗原、ウイルスまたは自己免疫タンパク質などの標的ポリペプチドのペプチドエピトープまたはT細胞エピトープを認識するT細胞受容体 (TCR) またはその抗原結合部分を発現する、T細胞などの操作された細胞が提供される。

【0175】

いくつかの態様では、「T細胞受容体」または「TCR」は、可変鎖および鎖(それぞれTCR およびTCR としても知られる)または可変鎖および鎖(それぞれTCR およびTCR としても知られる)またはそれらの抗原結合部分を含み、MHC分子に結合したペプチドに特異的に結合することができる分子である。いくつかの態様では、TCRは形態である。典型的には、および形態で存在するTCRは通常構造的に類似するが、それらを発現するT細胞は異なる解剖学的位置または機能を有し得る。TCRは、細胞の表面上にまたは可溶性形態で見出され得る。通常TCRは、それが通常は主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子に結合した抗原を認識することに関与するT細胞(またはTリンパ球)の表面上に見出される。

【0176】

特に明記されない限り、「TCR」という用語は、完全なTCR、ならびにその抗原結合部分または抗原結合断片を包含すると理解されるべきである。いくつかの態様では、TCRは、

形態または形態のTCRを含む、無傷または完全長のTCRである。いくつかの態様では、TCRは、完全長未満のTCRであるが、MHC分子に結合した特定のペプチドに結合する、例えばMHC-ペプチド複合体に結合する抗原結合部分である。いくつかの場合には、TCRの抗原結合部分または断片は、完全長または無傷のTCRの構造ドメインの一部のみを含み得るが、それでもなお、完全なTCRが結合するMHC-ペプチド複合体などのペプチドエピトープに結合することができる。いくつかの場合には、抗原結合部分は、特定のMHC-ペプチド複合体に結合するための結合部位を形成するのに十分な、TCRの可変鎖および可変鎖などのTCRの可変ドメインを含む。通常、TCRの可変鎖は、ペプチド、MHCおよび/またはMHC-ペプチド複合体の認識に関与する相補性決定領域を含む。

【0177】

いくつかの態様では、TCRの可変ドメインは、通常は抗原認識ならびに結合能力および特異性に対する主な寄与因子である、超可変ループまたは相補性決定領域 (CDR) を含む。いくつかの態様では、TCRのCDRまたはそれらの組み合わせは、所与のTCR分子の抗原結合部位の全部または実質的に全部を形成する。TCR鎖の可変領域内の様々なCDRは、通常、CDRと比較してTCR分子間で通常より少ない変動性を示すフレームワーク領域 (FR) によって分離されている(例えばJores et al., Proc.Nat'l Acad.Sci.U.S.A.87:9138,1990; Chothia et al., EMBO J.7:3745,1988参照; またLefranc et al., Dev.Comp.Immunol.27:55,2003も参照のこと)。いくつかの態様では、CDR3は、抗原結合もしくは特異性に関与する主なCDRであるか、または抗原認識および/もしくはペプチド-MHC複合体のプロセシングされたペプチド部分との相互作用のために、所与のTCR可変領域上の3つのCDRのうちで最も重要である。いくつかの状況では、鎖のCDR1は特定の抗原ペプチドのN末端部分と相互作用することができる。いくつかの状況では、鎖のCDR1はペプチドのC末端部分と相互作用することができる。いくつかの状況では、CDR2は、MHC-ペプチド複合体のMHC部分との相互作用またはMHC部分の認識に最も強く寄与するか、またはそれに関与する主要なCDRである。いくつかの態様では、鎖の可変領域は、通常はスーパー抗原結合に関与し、

10

20

30

40

50

抗原認識には関与しないさらなる超可変領域（CDR4またはHVR4）を含み得る（Kotb (1995) Clinical Microbiology Reviews, 8:411-426）。

【0178】

いくつかの態様では、TCRはまた、定常ドメイン、膜貫通ドメインおよび/または短い細胞質尾部を含み得る（例えばJaneway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3rd Ed., Current Biology Publications, p.4:33, 1997参照）。いくつかの局面では、TCRの各々の鎖は、1つのN末端免疫グロブリン可変ドメイン、1つの免疫グロブリン定常ドメイン、膜貫通領域、およびC末端に短い細胞質尾部を有し得る。いくつかの態様では、TCRは、シグナル伝達の媒介に関するCD3複合体のインバリアントタンパク質と会合している。

10

【0179】

いくつかの態様では、TCR鎖は1つまたは複数の定常ドメインを含む。例えば、所与のTCR鎖（例えば鎖または鎖）の細胞外部分は、2つの免疫グロブリン様ドメイン、例えば可変ドメイン（例えばVまたはV；典型的にはKabatナンバリングに基づき鎖のアミノ酸1～116位、Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed."）、および細胞膜に隣接する定常ドメイン（例えば鎖定常ドメインもしくはC、典型的にはKabatナンバリングに基づき鎖の117～259位または鎖定常ドメインもしくはC、典型的にはKabatに基づき鎖の117～295位）を含み得る。例えば、いくつかの場合には、2本の鎖によって形成されるTCRの細胞外部分は、2つの膜近位定常ドメイン、および2つの膜遠位可変ドメインを含み、これらの可変ドメインはそれぞれCDRを含む。TCRの定常ドメインは、システイン残基がジスルフィド結合を形成し、それによってTCRの2本の鎖を連結する短い連結配列を含み得る。いくつかの態様では、TCRが定常ドメイン内に2つのジスルフィド結合を含むように、TCRは、鎖および鎖のそれぞれにさらなるシステイン残基を有し得る。

20

【0180】

いくつかの態様では、TCR鎖は膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様では、膜貫通ドメインは正に荷電している。いくつかの場合には、TCR鎖は細胞質尾部を含む。いくつかの場合には、その構造は、TCRがCD3およびそのサブユニットのような他の分子と会合することを可能にする。例えば、膜貫通領域を有する定常ドメインを含むTCRは、タンパク質を細胞膜に固定し、CD3シグナル伝達装置または複合体のインバリアントサブユニットと会合し得る。CD3シグナル伝達サブユニット（例えばCD3、CD3、CD3およびCD3鎖）の細胞内尾部は、TCR複合体のシグナル伝達能力に関する1つまたは複数の免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはITAMを含む。

30

【0181】

いくつかの態様では、TCRは、2本の鎖および（または任意でおよび）のヘテロ二量体であり得るか、または一本鎖TCR構築物であり得る。いくつかの態様では、TCRは、1つまたは複数のジスルフィド結合などによって連結されている2本の別々の鎖（鎖と鎖または鎖と鎖）を含むヘテロ二量体である。

40

【0182】

いくつかの態様では、TCRは、実質的に完全長のコード配列が容易に利用可能であるV鎖の配列などの公知のTCR配列から生成することができる。細胞供給源から、V鎖配列を含む完全長TCR配列を得るための方法は周知である。いくつかの態様では、TCRをコードする核酸は、所与の1つまたは複数の細胞内のもしくは細胞から単離されたTCRコード核酸のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）增幅、または公的に入手可能なTCR DNA配列の合成などの様々な供給源から得ることができる。

【0183】

いくつかの態様では、TCRは、T細胞（例えば細胞傷害性T細胞）などの細胞、T細胞ハイブリドーマまたは他の公的に入手可能な供給源などの生物学的供給源から得られる。いくつかの態様では、T細胞は、インビボで単離された細胞から得ることができる。いくつか

50

の態様では、TCRは胸腺的に選択されたTCRである。いくつかの態様では、TCRはネオエピトープ拘束性TCRである。いくつかの態様では、T細胞は、培養されたT細胞ハイブリドーマまたはクローンであり得る。いくつかの態様では、TCRまたはその抗原結合部分は、TCRの配列の知識から合成的に生成することができる。

【0184】

いくつかの態様では、TCRは、標的ポリペプチド抗原またはその標的T細胞エピトープに対して候補TCRのライブラリをスクリーニングすることから同定または選択されたTCRから生成される。TCRライブラリは、PBMC、脾臓または他のリンパ系器官に存在する細胞を含む、対象から単離されたT細胞からのV_αおよびV_βのレパートリの増幅によって作製することができる。いくつかの場合には、T細胞は腫瘍浸潤リンパ球（TIL）から増幅することができる。いくつかの態様では、TCRライブラリはCD4⁺またはCD8⁺細胞から作製することができる。いくつかの態様では、TCRは、正常なまたは健康な対象のT細胞供給源、すなわち正常なTCRライブラリから増幅することができる。いくつかの態様では、TCRは、罹患対象のT細胞供給源、すなわち罹患TCRライブラリから増幅することができる。いくつかの態様では、縮重プライマーを使用して、ヒトから得られたT細胞などの試料におけるRT-PCRなどによって、V_αおよびV_βの遺伝子レパートリを増幅する。いくつかの態様では、scT_Vライブラリは、増幅産物がクローニングされるかまたはリンカーによって分離されるように構築されるナイーブV_αおよびV_βライブラリから構築することができる。対象および細胞の供給源に依存して、ライブラリはHLA対立遺伝子特異的であり得る。あるいは、いくつかの態様では、TCRライブラリは、親または骨格TCR分子の突然変異誘発または多様化によって作製することができる。いくつかの局面では、TCRは、例えば鎖または鎖の突然変異誘発などによる指向性進化に供される。いくつかの局面では、TCRのCDR内の特定の残基が変更されている。いくつかの態様では、選択されたTCRを親和性成熟によって変更することができる。いくつかの態様では、ペプチドに対するCTL活性を評価するためのスクリーニングなどによって、抗原特異的T細胞を選択し得る。いくつかの局面では、TCR、例えば抗原特異的T細胞上に存在するTCRは、結合活性、例えば抗原に対する特定の親和性またはアビディティなどによって選択し得る。

【0185】

いくつかの態様では、遺伝子操作された抗原受容体は、組換えT細胞受容体（TCR）および/または天然に存在するT細胞からクローニングされたTCRを含む。いくつかの態様では、標的抗原（例えば癌抗原）に対する高親和性T細胞クローンは、患者から同定され、単離され、細胞に導入される。いくつかの態様では、標的抗原に対するTCRクローンは、ヒト免疫系遺伝子（例えばヒト白血球抗原系、またはHLA）を用いて操作されたトランスジェニックマウスにおいて作製されている。例えば腫瘍抗原参照（例えばParkhurst et al. (2009) Clin Cancer Res. 15:169-180およびCohen et al. (2005) J Immunol. 175:5799-5808参照）。いくつかの態様では、標的抗原に対するTCRを単離するためにファージディスプレイが使用される（例えばVarela-Rohena et al. (2008) Nat Med. 14:1390-1395およびLi (2005) Nat Biotechnol. 23:349-354参照）。

【0186】

いくつかの態様では、TCRまたはその抗原結合部分は、変更または操作されているものである。いくつかの態様では、指向性進化法を使用して、特定のMHC-ペプチド複合体に対するより高い親和性などの変更された特性を有するTCRを生成する。いくつかの態様では、指向性進化は、酵母ディスプレイ（Holler et al., (2003) Nat Immunol. 4:55-62; Holler et al., (2000) Proc Natl Acad Sci U S A, 97, 5387-92）、ファージディスプレイ（Li et al., (2005) Nat Biotechnol. 23, 349-54）、またはT細胞ディスプレイ（Chervi et al., (2008) J Immunol Methods, 339, 175-84）を含むがこれらに限定されるわけではないディスプレイ法によって達成される。いくつかの態様では、ディスプレイアプローチは、公知のTCR、親TCR、または参照TCRを操作するまたは変更することを含む。例えば、いくつかの場合には、野生型TCRを、CDRの1つまたは複数の残基が変異している変異誘発されたTCRを生成するための鋳型として使用することができ、所望の標的抗原に対する

10

20

30

40

50

より高い親和性などの所望の変更された特性を有する変異体を選択する。

【0187】

いくつかの態様では、関心対象のTCRを作製または生成する際に使用するための標的ポリペプチドのペプチドは、公知であるかまたは当業者によって容易に同定され得る。いくつかの態様では、TCRまたは抗原結合部分を生成する際に使用するのに適したペプチドは、関心対象の標的ポリペプチド、例えば下記の標的ポリペプチド中のHLA拘束性モチーフの存在に基づいて決定することができる。いくつかの態様では、ペプチドは、当業者に公知のコンピュータ予測モデルを用いて同定される。いくつかの態様では、MHCクラスI結合部位を予測するために、そのようなモデルとしては、ProPred1 (Singh and Raghava (2001) *Bioinformatics* 17 (12) :1236-1237) およびSYFPEITHI (Schuler et al., (2007) *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 409 (1) :75-93 2007) が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。いくつかの態様では、MHC拘束性エピトープは、全白人の約39～46%で発現されるHLA-A0201であり、したがって、TCRまたは他のMHC-ペプチド結合分子を調製するのに使用するためのMHC抗原の適切な選択である。

【0188】

コンピュータ予測モデルを用いたHLA-A0201結合モチーフならびにプロテアソームおよび免疫プロテアソームの切断部位は当業者に公知である。MHCクラスI結合部位を予測するために、そのようなモデルとしては、ProPred1 (Singh and Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. Bioinformatics* 17 (12) :1236-1237 2001により詳細に記載されている)、およびSYFPEITHI (Schuler et al., *SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. in Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, vol 409 (1) :75-93 2007参照) が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【0189】

いくつかの態様では、TCRまたはその抗原結合部分は、結合特性などの1つまたは複数の特性が変更されている、組換え生産された天然タンパク質またはその変異型であり得る。いくつかの態様では、TCRは、ヒト、マウス、ラット、または他の哺乳動物などの様々な動物種の1つに由来し得る。TCRは細胞結合型でも可溶型でもよい。いくつかの態様では、提供される方法の目的のために、TCRは細胞の表面に発現される細胞結合型である。

【0190】

いくつかの態様では、TCRは完全長TCRである。いくつかの態様では、TCRは抗原結合部分である。いくつかの態様では、TCRは二量体TCR (dTCR) である。いくつかの態様では、TCRは一本鎖TCR (sc-TCR) である。いくつかの態様では、dTCRまたはscTCRは、国際公開公報第03/020763号、同第04/033685号、同第2011/044186号に記載されている構造を有する。

【0191】

いくつかの態様では、TCRは膜貫通配列に対応する配列を含む。いくつかの態様では、TCRは細胞質配列に対応する配列を含む。いくつかの態様では、TCRはCD3とTCR複合体を形成することができる。いくつかの態様では、dTCRまたはscTCRを含む任意のTCRは、T細胞の表面上に活性TCRを生じるシグナル伝達ドメインに連結され得る。いくつかの態様では、TCRは細胞の表面上に発現される。

【0192】

いくつかの態様では、dTCRは、TCR鎖可変領域配列に対応する配列がTCR鎖定常領域細胞外配列に対応する配列のN末端に融合している第一のポリペプチド、およびTCR鎖可変領域配列に対応する配列がTCR鎖定常領域細胞外配列に対応する配列のN末端に融合している第二のポリペプチドを含み、第一のポリペプチドと第二のポリペプチドはジスルフィド結合によって連結されている。いくつかの態様では、結合は、天然の二量体TCR中に存在する天然の鎖間ジスルフィド結合に対応し得る。いくつかの態様では、鎖間ジスルフィド結合は天然のTCR中には存在しない。例えば、いくつかの態様では、1つまたは複数のシステインをdTCRポリペプチド対の定常領域細胞外配列に組み込むことができる。いくつかの場合には、天然および非天然の両方のジスルフィド結合が望ましいことがあり得

10

20

30

40

50

る。いくつかの態様では、TCRは、膜に固定するための膜貫通配列を含む。

【0193】

いくつかの態様では、dT_{CR}は、可変ドメイン、定常ドメインおよび定常ドメインのC末端に結合した第一の二量体化モチーフを含むTCR鎖、ならびに可変ドメイン、定常ドメインおよび定常ドメインのC末端に結合した第一の二量体化モチーフを含むTCR

鎖を含み、ここで、第一と第二の二量体化モチーフは容易に相互作用して、第一の二量体化モチーフ中のアミノ酸と第二の二量体化モチーフ中のアミノ酸との間に共有結合を形成し、TCR鎖とTCR鎖を一緒に連結する。

【0194】

いくつかの態様では、TCRはscTCRである。典型的には、scTCRは当業者に公知の方法を用いて生成することができる。例えばSoo Hoo,W.F. et al., PNAS (USA) 89,4759 (1992) ; Wulffing,C. and Pluckthun,A. , J.Mol.Biol.242,655 (1994) ; Kurucz,I. et al., PNAS (USA) 90 3830 (1993) ; 国際公開公報第96/13593号、同第96/18105号、同第99/60120号、同第99/18129号、同第03/020763号、同第2011/044186号；およびSchlueter,C.J. et al., J.Mol.Biol.256,859 (1996) 参照。いくつかの態様では、scTCRは、TCR鎖の会合を容易にするために導入された非天然ジスルフィド鎖間結合を含む（例えば国際公開公報第03/020763号参照）。いくつかの態様では、scTCRは、そのC末端に融合した異種ロイシンジッパーが鎖の会合を促進する、非ジスルフィド結合短縮型TCRである（例えば国際公開公報第99/60120号参照）。いくつかの態様では、scTCRは、ペプチドリンカーを介してTCR可変ドメインに共有結合したTCR可変ドメインを含む（例えば国際公開公報第99/18129号参照）。

10

20

20

【0195】

いくつかの態様では、scTCRは、TCR鎖可変領域に対応するアミノ酸配列によって構成される第一のセグメント、TCR鎖定常ドメイン細胞外配列に対応するアミノ酸配列のN末端に融合したTCR鎖可変領域配列に対応するアミノ酸配列によって構成される第二のセグメント、および第一のセグメントのC末端を第二のセグメントのN末端に連結するリンクカー配列を含む。

【0196】

いくつかの態様では、scTCRは、鎖細胞外定常ドメイン配列のN末端に融合した鎖可変領域配列によって構成される第一のセグメント、ならびに鎖細胞外定常配列と膜貫通配列との配列のN末端に融合した鎖可変領域配列およびによって構成される第二のセグメント、ならびに任意で、第一のセグメントのC末端を第二のセグメントのN末端に連結するリンクカー配列を含む。

30

【0197】

いくつかの態様では、scTCRは、鎖細胞外定常ドメイン配列のN末端に融合したTCR鎖可変領域配列によって構成される第一のセグメント、ならびに鎖細胞外定常配列と膜貫通配列との配列のN末端に融合した鎖可変領域配列およびによって構成される第二のセグメント、ならびに任意で、第一のセグメントのC末端を第二のセグメントのN末端に連結するリンクカー配列を含む。

【0198】

いくつかの態様では、第一および第二のTCRセグメントを連結するscTCRのリンクカーは、TCRの結合特異性を保持しながら、単一のポリペプチド鎖を形成することができる任意のリンクカーであり得る。いくつかの態様では、リンクカー配列は、例えば式-P-AA-P-を有してよく、式中、Pはプロリンであり、AAはアミノ酸配列を表し、アミノ酸はグリシンおよびセリンである。いくつかの態様では、第一および第二のセグメントは、その可変領域配列がそのような結合のために配向されるように対応される。したがって、いくつかの場合には、リンクカーは、第一のセグメントのC末端と第二のセグメントのN末端との間、またはその逆の間の距離を橋渡しするのに十分な長さを有するが、scTCRの標的リガンドへの結合を遮断または低減するほどには長くない。いくつかの態様では、リンクカーは、10～45個のアミノ酸、例えば10～30個のアミノ酸もしくは26～41個のアミノ酸残基、例えば29、30、

40

50

31もしくは32個のアミノ酸、またはおよそこれらの個数のアミノ酸を含み得る。いくつかの態様では、リンカーは、式-PGGG- (SGGGG)₅-P- (SEQ ID NO: 22) を有し、式中、Pはプロリンであり、Gはグリシンであり、およびSはセリンである。いくつかの態様では、リンカーは、配列GSADDAAKKDAAKKDGS (SEQ ID NO: 23) を有する。

【0199】

いくつかの態様では、scTCRは、鎖の定常ドメインの免疫グロブリン領域の残基を鎖の定常ドメインの免疫グロブリン領域の残基に連結する共有ジスルフィド結合を含む。いくつかの態様では、天然TCR中の鎖間ジスルフィド結合は存在しない。例えば、いくつかの態様では、1つまたは複数のシステインを、scTCRポリペプチドの第一および第二のセグメントの定常領域細胞外配列に組み込むことができる。いくつかの場合には、天然および非天然の両方のジスルフィド結合が望ましい場合もある。

10

【0200】

導入された鎖間ジスルフィド結合を含むdTCRまたはscTCRのいくつかの態様では、天然のジスルフィド結合は存在しない。いくつかの態様では、天然の鎖間ジスルフィド結合を形成する天然のシステインの1つまたは複数は、セリンまたはアラニンなどの別の残基に置換されている。いくつかの態様では、導入されるジスルフィド結合は、第一および第二のセグメント上の非システイン残基をシステインに変異させることによって形成することができる。TCRの例示的な非天然ジスルフィド結合は、国際公開公報第2006/000830号に記載されている。

20

【0201】

いくつかの態様では、TCRまたはその抗原結合断片は、 $10^{-5} \sim 10^{-12}$ Mまたは約 $10^{-5} \sim 10^{-12}$ Mならびにその中のすべての個々の値および範囲の標的抗原に対する平衡結合定数で親和性を示す。いくつかの態様では、標的抗原はMHC-ペプチド複合体またはリガンドである。

【0202】

いくつかの態様では、鎖および鎖などのTCRをコードする1つまたは複数の核酸は、PCR、クローニングまたは他の適切な手段によって増幅し、適切な1つまたは複数の発現ベクターにクローニングすることができる。発現ベクターは、任意の適切な組換え発現ベクターであり得、任意の適切な宿主を形質転換またはトランスフェクトするために使用することができる。適切なベクターには、プラスミドおよびウイルスなどの、増殖および拡大的ため、または発現のため、またはその両方のために設計されたものが含まれる。

30

【0203】

いくつかの態様では、ベクターは、pUCシリーズ (Fermentas Life Sciences)、pBluescriptシリーズ (Stratagene, LaJolla, Calif.)、pETシリーズ (Novagen, Madison, Wis.)、pGEXシリーズ (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、またはpEXシリーズ (Clontech, Palo Alto, Calif.) のベクターであり得る。いくつかの場合には、G10、GT11、ZapII (Stratagene)、EMBL4、およびNM1149などのバクテリオファージベクターも使用することができる。いくつかの態様では、植物発現ベクターを使用することができる、これには、pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121およびpBIN19 (Clontech) が含まれる。いくつかの態様では、動物発現ベクターには、pEUK-CI、pMAMおよびpMAMneo (Clontech) が含まれる。いくつかの態様では、レトロウイルスベクターなどのウイルスベクターが使用される。

40

【0204】

いくつかの態様では、組換え発現ベクターは、標準的な組換えDNA技術を用いて調製することができる。いくつかの態様では、ベクターは、適切に、かつベクターがDNAベースであるかRNAベースであるかを考慮に入れて、ベクターが導入される宿主の種類 (例えば細菌、真菌、植物、または動物) に特異的な転写および翻訳開始および終止コドンなどの調節配列を含み得る。いくつかの態様では、ベクターは、TCRまたは抗原結合部分 (または他のMHC-ペプチド結合分子) をコードするヌクレオチド配列に機能的に連結された非天然プロモーターを含み得る。いくつかの態様では、プロモーターは、非ウイルスプロモー

50

ターまたはウイルスプロモーター、例えばサイトメガロウイルス(CMV)プロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーター、およびマウス幹細胞ウイルスの長い末端反復配列中に見られるプロモーターであり得る。当業者に公知の他のプロモーターも企図される。

【0205】

いくつかの態様では、T細胞クローニングが得られた後、TCR鎖および鎖を単離し、遺伝子発現ベクターにクローニングする。いくつかの態様では、TCRおよび遺伝子は、両方の鎖が共発現するように、ピコルナウイルス2Aリボソームスキップペプチドを介して連結される。いくつかの態様では、TCRの遺伝子導入は、レトロウイルスもしくはレンチウイルスベクター、またはトランスポゾンを介して達成される(例えばBaum et al. (2006) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 13:1050-1063; Frecha et al. (2010) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 18:1748-1757; およびHackett et al. (2010) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 18:674-683参照)。

10

【0206】

いくつかの態様では、TCRをコードするベクターを作製するために、関心対象のTCRを発現するT細胞クローニングから単離された全cDNAから鎖および鎖をPCR増幅し、発現ベクターにクローニングする。いくつかの態様では、鎖と鎖は同じベクターにクローニングされる。いくつかの態様では、鎖と鎖は異なるベクターにクローニングされる。いくつかの態様では、作製された鎖および鎖は、レトロウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターに組み込まれる。

20

【0207】

3. キメラ自己抗体受容体(CAAR)

いくつかの態様では、組換え受容体はキメラ自己抗体受容体(CAAR)である。いくつかの態様では、CAARは自己抗体に特異的である。いくつかの態様では、CAARを発現するように操作されたT細胞などのCAARを発現する細胞を使用して、自己抗体発現細胞に特異的に結合してこれを死滅させることができるが、正常な抗体発現細胞には結合せず、これを死滅させない。いくつかの態様では、CAAR発現細胞を使用して、自己免疫疾患などの自己抗原の発現に関連する自己免疫疾患を治療することができる。いくつかの態様では、CAAR発現細胞は、最終的に自己抗体を産生し、その細胞表面に自己抗体を提示するB細胞を標的とし、これらのB細胞を治療的介入のための疾患特異的標的としてマークすることができる。いくつかの態様では、CAAR発現細胞を使用して、抗原特異的キメラ自己抗体受容体を用いて疾患を引き起こすB細胞を標的とすることによって、自己免疫疾患における病原性B細胞を効率的に標的とし、死滅させることができる。いくつかの態様では、組換え受容体は、米国特許出願公開第2017/0051035号に記載されるものなどのCAARである。

30

【0208】

いくつかの態様では、CAARは、自己抗体結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナル伝達領域を含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達領域は細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン、T細胞において一次活性化シグナルを誘導することができるシグナル伝達ドメイン、T細胞受容体(TCR)成分のシグナル伝達ドメイン、および/または免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)を含むシグナル伝達ドメインであるかまたはそれを含む。いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達領域は、二次または共刺激シグナル伝達領域(二次細胞内シグナル伝達領域)を含む。

40

【0209】

いくつかの態様では、自己抗体結合ドメインは自己抗原またはその断片を含む。自己抗原の選択は、標的とされる自己抗体の種類に依存し得る。例えば、自己抗原は、それが特定の疾患状態、例えば自己抗体媒介自己免疫疾患などの自己免疫疾患に関連する、B細胞などの標的細胞上の自己抗体を認識するために選択され得る。いくつかの態様では、自己免疫疾患は尋常性天疱瘡(PV)を含む。例示的な自己抗原には、デスマグレイン1(Dsg1)およびDsg3が含まれる。

50

【0210】

4. マルチターゲティング

いくつかの態様では、細胞および方法は、それぞれが同じかまたは異なる抗原を認識し、典型的にはそれぞれが異なる細胞内シグナル伝達成分を含む、細胞上の2つまたはそれ以上の遺伝子操作された受容体の発現などのマルチターゲティング戦略を含む。そのようなマルチターゲティング戦略は、例えば国際特許出願公報第2014055668A1号（例えば、オフターゲット細胞、例えば正常細胞上では個別に存在するが、治療される疾患または状態の細胞上でのみ一緒に存在する2つの異なる抗原を標的とする、活性化CARと共刺激CARとの組み合わせを記載する）、ならびにFedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5 (215) (2013年12月)（活性化CARが正常細胞または非罹患細胞、および治療される疾患または状態の細胞の両方で発現される1つの抗原に結合し、阻害性CARが正常細胞または治療されることが望ましくない細胞でのみ発現される別の抗原に結合するものなどの、活性化CARと阻害性CARを発現する細胞を記載する）に記載されている。

10

【0211】

例えば、いくつかの態様では、細胞は、通常第一の受容体によって認識される抗原、例えば第一の抗原への特異的結合時に細胞への活性化シグナルを誘導することができる第一の遺伝子操作された抗原受容体（例えばCARまたはTCR）を発現する受容体を含む。いくつかの態様では、細胞は、通常第二の受容体によって認識される第二の抗原への特異的結合時に免疫細胞への共刺激シグナルを誘導することができる第二の遺伝子操作された抗原受容体（例えばCARまたはTCR）、例えばキメラ共刺激受容体をさらに含む。いくつかの態様では、第一の抗原と第二の抗原は同じである。いくつかの態様では、第一の抗原と第二の抗原は異なる。

20

【0212】

いくつかの態様では、第一および/または第二の遺伝子操作された抗原受容体（例えばCARまたはTCR）は、細胞への活性化シグナルを誘導することができる。いくつかの態様では、受容体は、ITAMまたはITAM様モチーフを含有する細胞内シグナル伝達成分を含む。いくつかの態様では、第一の受容体によって誘導される活性化は、細胞内でのシグナル伝達またはタンパク質発現の変化を含み、結果として、ITAMリン酸化および/またはITAM媒介シグナル伝達カスケードの開始などの免疫応答の開始、免疫学的シナプスの形成および/または結合した受容体付近の分子（例えばCD4もしくはCD8など）のクラスター化、NF- Bおよび/またはAP-1などの1つまたは複数の転写因子の活性化、ならびに/またはサイトカインなどの因子の遺伝子発現、増殖、および/もしくは生存の誘導をもたらす。

30

【0213】

いくつかの態様では、第一および/または第二の受容体は、CD28、CD137 (4-1BB)、OX40、および/またはICOSなどの共刺激受容体の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、第一の受容体と第二の受容体は、異なる共刺激受容体の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。一態様では、第一の受容体はCD28共刺激シグナル伝達領域を含み、第二の受容体は4-1BB共刺激シグナル伝達領域を含むか、またはその逆である。

【0214】

いくつかの態様では、第一および/または第二の受容体は、ITAMまたはITAM様モチーフを含む細胞内シグナル伝達ドメインと共に刺激受容体の細胞内シグナル伝達ドメインの両方を含む。

40

【0215】

いくつかの態様では、第一の受容体はITAMまたはITAM様モチーフを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含み、第二の受容体は共刺激受容体の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。同じ細胞内で誘導される活性化シグナルと組み合わせる共刺激シグナルは、免疫応答、例えば遺伝子発現の増加、サイトカインおよび他の因子の分泌、ならびに細胞死滅などのT細胞媒介エフェクター機能のような堅固で持続的な免疫応答をもたらすものである。

【0216】

いくつかの態様では、第一の受容体単独の連結または第二の受容体単独の連結のいずれ

50

もが、堅固な免疫応答を誘導しない。いくつかの局面では、1つの受容体のみが連結されている場合、細胞は、抗原に対して寛容もしくは非応答性になるか、または阻害され、および/または因子を増殖もしくは分泌するまたはエフェクター機能を実行するように誘導されない。しかしながら、いくつかのそのような態様では、第一および第二の抗原を発現する細胞の遭遇時などに複数の受容体が連結されると、例えば1つもしくは複数のサイトカインの分泌、増殖、持続性、および/または標的細胞の細胞傷害性死滅などの免疫エフェクター機能の実行によって示されるように、完全な免疫活性化または刺激などの所望の応答が達成される。

【0217】

いくつかの態様では、2つの受容体はそれぞれ、細胞への活性化シグナルおよび阻害性シグナルを誘導し、その結果、一方の受容体によるその抗原への結合は細胞を活性化するまたは応答を誘導するが、第二の阻害性受容体によるその抗原への結合はその応答を抑制または減弱させるシグナルを誘導する。例は、活性化CARと阻害性CARまたはiCARとの組み合わせである。そのような戦略は、例えば、活性化CARが、疾患または状態において発現されるが正常細胞上でも発現される抗原に結合し、阻害性受容体が、正常細胞上で発現されるが疾患または状態の細胞上では発現されない別の抗原に結合する場合に使用され得る。

【0218】

いくつかの態様では、マルチターゲティング戦略は、特定の疾患または状態に関連する抗原が非罹患細胞上および/または操作された細胞自体で、一過性に（例えば遺伝子操作に関連する刺激時に）または永続的に発現される場合に用いられる。そのような場合、2つの別々のおよび個別に特異的な抗原受容体の連結を必要とすることによって、特異性、選択性、および/または有効性が改善され得る。

【0219】

いくつかの態様では、複数の抗原、例えば第一および第二の抗原は、癌細胞などの標的とされる細胞、組織、または疾患もしくは状態で発現される。いくつかの局面では、細胞、組織、疾患または状態は、多発性骨髄腫または多発性骨髄腫細胞である。いくつかの態様では、複数の抗原のうちの1つまたは複数は通常、正常もしくは非罹患細胞もしくは組織などの細胞療法で標的とすることが望ましくない細胞、および/または操作された細胞自体でも発現される。そのような態様では、細胞の応答を達成するために複数の受容体の連結を必要とすることによって、特異性および/または活性が達成される。

【0220】

B. 遺伝子操作のための細胞および細胞の調製

受容体を発現し、提供される方法によって投与される細胞の中には、操作された細胞がある。遺伝子操作は通常、レトロウイルス形質導入、トランスフェクション、または形質転換などによる、細胞を含む組成物への組換えまたは操作された成分をコードする核酸の導入を含む。

【0221】

いくつかの態様では、核酸は異種であり、すなわち通常は細胞または細胞から得られる試料中には存在せず、例えば操作されている細胞中に通常は認められない別の生物もしくは細胞、またはそのような細胞が由来する生物から得られるものである。いくつかの態様では、複数の異なる細胞型からの様々なドメインをコードする核酸のキメラ組み合わせを含有するものを含む、天然には認められない核酸などの核酸は、天然には存在しない。

【0222】

細胞は通常、哺乳動物細胞などの真核細胞であり、典型的にはヒト細胞である。いくつかの態様では、細胞は、血液、骨髄、リンパ、またはリンパ系器官に由来し、先天性または適応免疫の細胞などの免疫系の細胞、例えばリンパ球を含む骨髄またはリンパ系細胞、典型的にはT細胞および/またはNK細胞である。他の例示的な細胞としては、人工多能性幹細胞（iPSC）を含む多能性幹細胞などの幹細胞が挙げられる。細胞は、典型的には、対象から直接単離されたもの、および/または対象から単離されて凍結されたものなどの初代

10

20

30

40

50

細胞である。いくつかの態様では、細胞は、T細胞または他の細胞型の1つまたは複数のサブセット、例えば全T細胞集団、CD4⁺細胞、CD8⁺細胞、およびそれらの亜集団、例えば機能、活性化状態、成熟度、分化、拡大、再循環、局在化、および/もしくは持続能力についての潜在能、抗原特異性、抗原受容体の種類、特定の器官もしくは区画における存在、マーカーもしくはサイトカイン分泌プロフィール、ならびに/または分化の程度によって定義されるものを含む。治療される対象に関して、細胞は同種異系および/または自己由来であり得る。方法の中には、既製の方法が含まれる。既製の技術などに関するいくつかの局面では、細胞は、人工多能性幹細胞(iPSC)などの幹細胞のような多能性である。いくつかの態様では、方法は、凍結保存の前または後に、対象から細胞を単離すること、それらを調製し、処理し、培養し、および/または操作すること、ならびにそれらを同じ対象に再導入することを含む。

10

【0223】

T細胞ならびに/またはCD4⁺および/もしくはCD8⁺T細胞のサブタイプおよび亜集団の中には、ナイーブT(T_N)細胞、エフェクターT細胞(T_{EFF})、メモリーT細胞およびそのサブタイプ、例えば幹細胞メモリーT(T_{SCM})細胞、セントラルメモリーT(T_{CM})細胞、エフェクターメモリーT(T_{EM})細胞、または最終分化エフェクターメモリーT細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、未熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連インバリアントT(MAIT)細胞、天然および適応制御性T(Treg)細胞、ヘルパーT細胞、例えばTH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞性ヘルパーT細胞、/T細胞、および/T細胞がある。

20

【0224】

いくつかの態様では、細胞はナチュラルキラー(NK)細胞である。いくつかの態様では、細胞は、単球または顆粒球、例えば骨髄細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、肥満細胞、好酸球、および/または好塩基球である。

【0225】

いくつかの態様では、細胞は、遺伝子操作によって導入された1つまたは複数の核酸を含み、それによってそのような核酸の組換え産物または遺伝子操作された産物を発現する。いくつかの態様では、核酸は異種であり、すなわち通常は細胞または細胞から得られる試料中には存在せず、例えば操作されている細胞中に通常は認められない別の生物もしくは細胞、またはそのような細胞が由来する生物から得られるものである。いくつかの態様では、複数の異なる細胞型からの様々なドメインをコードする核酸のキメラ組み合わせを含有するものを含む、天然には認められない核酸などの核酸は、天然には存在しない。

30

【0226】

いくつかの態様では、操作された細胞の調製は、1つまたは複数の培養および/または調製工程を含む。CARなどのトランスジェニック受容体をコードする核酸を導入するための細胞は、生物学的試料などの試料、例えば対象から得られたまたは対象に由来するものから単離され得る。いくつかの態様では、細胞が単離される対象は、疾患もしくは状態を有するか、または細胞療法を必要とするか、または細胞療法が投与される対象である。いくつかの態様における対象は、細胞が単離、処理、および/または操作されている養子細胞療法などの特定の治療的介入を必要とするヒトである。

40

【0227】

したがって、いくつかの態様における細胞は初代細胞、例えば初代ヒト細胞である。試料には、組織、体液、および対象から直接採取した他の試料、ならびに分離、遠心分離、遺伝子操作(例えばウイルスベクターによる形質導入)、洗浄、および/またはインキュベーションなどの1つまたは複数の処理工程から得られる試料が含まれる。生物学的試料は、生物学的供給源から直接得られた試料または処理された試料であり得る。生物学的試料には、血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、尿および汗などの体液、組織および臓器に由来する処理された試料を含む組織および臓器試料が含まれるが、これらに限定されるわけではない。

【0228】

50

いくつかの局面では、細胞が由来するまたは単離される試料は、血液もしくは血液由來の試料であるか、またはアフェレーシスもしくは白血球アフェレーシスの産物であるかもしくはそれに由来する。例示的な試料としては、全血、末梢血単核細胞（PBMC）、白血球、骨髓、胸腺、組織生検材料、腫瘍、白血病、リンパ腫、リンパ節、腸管関連リンパ組織、粘膜関連リンパ組織、脾臓、他のリンパ組織、肝臓、肺、胃、腸、結腸、腎臓、膀胱、乳房、骨、前立腺、子宮頸、精巣、卵巣、扁桃腺、または他の臓器、および/またはそれに由来する細胞が挙げられる。試料には、細胞療法、例えば養子細胞療法に関連して、自己由来および同種異系供給源由来の試料が含まれる。

【0229】

いくつかの態様では、細胞は細胞株、例えばT細胞株に由来する。いくつかの態様における細胞は、異種供給源、例えばマウス、ラット、非ヒト靈長動物、およびブタから得られる。

【0230】

いくつかの態様では、細胞の単離は、1つまたは複数の調製および/または非親和性ベースの細胞分離工程を含む。いくつかの例では、細胞は、例えば不要な成分を除去する、所望の成分を濃縮する、特定の試薬に感受性の細胞を溶解または除去するために、洗浄、遠心分離、および/または1つもしくは複数の試薬の存在下でインキュベートされる。いくつかの例では、細胞は、密度、付着特性、サイズ、感受性、および/または特定の成分に対する耐性などの1つまたは複数の特性に基づいて分離される。

【0231】

いくつかの例では、対象の循環血液由来の細胞は、例えばアフェレーシスまたは白血球アフェレーシスによって得られる。試料は、いくつかの局面では、T細胞を含むリンパ球、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球、および/または血小板を含み、いくつかの局面では、赤血球および血小板以外の細胞を含む。

【0232】

いくつかの態様では、対象から採取された血球を、例えば血漿画分を除去し、その後の処理工程のために細胞を適切な緩衝液または培地に入れるために洗浄する。いくつかの態様では、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で細胞を洗浄する。いくつかの態様では、洗浄溶液は、カルシウムおよび/またはマグネシウムおよび/または多くのもしくはすべての二価カチオンを含まない。いくつかの局面では、洗浄工程は、製造業者の指示に従って半自動「フロースル」遠心分離機（例えばCobe 2991細胞プロセッサ、Baxter）によって達成される。いくつかの局面では、洗浄工程は、製造業者の指示に従って接線流ろ過（TFF）によって達成される。いくつかの態様では、細胞は、洗浄後に、例えば $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ を含まないPBSなどの様々な生体適合性緩衝液に再懸濁される。特定の態様では、血球試料の成分を除去し、細胞を培地に直接再懸濁する。

【0233】

いくつかの態様では、方法は、密度に基づく細胞分離方法、例えば赤血球を溶解することによる末梢血からの白血球の調製、およびパーコールまたはフィコール勾配による遠心分離を含む。

【0234】

いくつかの態様では、単離方法は、表面マーカー、例えば表面タンパク質、細胞内マーカー、または核酸などの1つまたは複数の特定の分子の細胞における発現または存在に基づく種々の細胞型の分離を含む。いくつかの態様では、そのようなマーカーに基づく分離のための任意の公知の方法を使用し得る。いくつかの態様では、分離は、親和性または免疫親和性に基づく分離である。例えば、いくつかの局面における単離は、1つまたは複数のマーカー、典型的には細胞表面マーカーの細胞での発現または発現レベルに基づく細胞および細胞集団の分離、例えばそのようなマーカーに特異的に結合する抗体または結合パートナーとのインキュベーション、続いて通常は、洗浄工程および抗体または結合パートナーに結合していない細胞からの抗体または結合パートナーに結合した細胞の分離によるものを含む。

10

20

30

40

50

【 0 2 3 5 】

そのような分離工程は、試薬に結合した細胞をさらなる使用のために保持する陽性選択、および/または抗体もしくは結合パートナーに結合しなかった細胞を保持する陰性選択に基づき得る。いくつかの例では、両方の画分をさらなる使用のために保持する。いくつかの局面では、陰性選択は、分離が、所望の集団以外の細胞によって発現されるマーカーに基づいて最も良好に行われるよう、異種集団において細胞型を特異的に同定する抗体が利用可能でない場合に特に有用であり得る。

【 0 2 3 6 】

分離は、特定の細胞集団または特定のマーカーを発現する細胞の100%の濃縮または除去をもたらす必要はない。例えば、マーカーを発現する細胞などの特定の種類の細胞の陽性選択または濃縮は、そのような細胞の数または割合を増加させることを指すが、マーカーを発現しない細胞の完全な非存在をもたらす必要はない。同様に、マーカーを発現する細胞などの特定の種類の細胞の陰性選択、除去、または枯渇は、そのような細胞の数または割合を減少させることを指すが、そのような細胞すべての完全な除去をもたらす必要はない。

10

【 0 2 3 7 】

いくつかの例では、1回の工程から陽性または陰性選択された画分が、その後の陽性または陰性選択などの別の分離工程に供される、複数回の分離工程が行われる。いくつかの例では、それぞれが陰性選択の標的となるマーカーに特異的な複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベートすることなどによって、複数のマーカーを同時に発現する細胞を単一の分離工程で枯渇させることができる。同様に、様々な細胞型上に発現された複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベートすることによって、複数の細胞型を同時に陽性選択することができる。

20

【 0 2 3 8 】

例えば、いくつかの局面では、T細胞の特定の亜集団、例えば陽性または高レベルの1つまたは複数の表面マーカー、例えばCD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺、および/またはCD45RO⁺T細胞を発現する細胞は、陽性または陰性選択技術によって単離される。

【 0 2 3 9 】

例えばCD3⁺、CD28⁺T細胞は、抗CD3/抗CD28結合磁気ビーズ（例えばDYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28T Cell Expander）を用いて陽性選択することができる。

30

【 0 2 4 0 】

いくつかの態様では、単離は、陽性選択による特定の細胞集団の濃縮、または陰性選択による特定の細胞集団の枯渇によって行われる。いくつかの態様では、陽性または陰性選択は、それぞれ陽性または陰性選択された細胞上に発現される（マーカー⁺）または比較的高いレベルで発現される（マーカー^高）1つまたは複数の表面マーカーに特異的に結合する1つまたは複数の抗体または他の結合剤と共に細胞をインキュベートすることによって達成される。

【 0 2 4 1 】

いくつかの態様では、T細胞は、B細胞、単球、またはCD14などの他の白血球のような非T細胞上に発現されるマーカーの陰性選択によってPBMC試料から分離される。いくつかの局面では、CD4⁺またはCD8⁺選択工程を用いてCD4⁺ヘルパーT細胞とCD8⁺細胞傷害性T細胞を分離する。そのようなCD4⁺およびCD8⁺集団は、1つまたは複数のナイーブT細胞、メモリーT細胞、および/またはエフェクターT細胞亜集団上に発現されるまたは比較的高い程度に発現されるマーカーについての陽性または陰性選択によって、さらに亜集団に分類することができる。

40

【 0 2 4 2 】

いくつかの態様では、CD8⁺細胞は、それぞれの亜集団に関連する表面抗原に基づく陽性選択または陰性選択などによって、ナイーブ、セントラルメモリー、エフェクターメモリー、および/またはセントラルメモリー幹細胞がさらに濃縮または枯渇される。いくつ

50

かの態様では、セントラルメモリーT(T_{CM})細胞の濃縮は、いくつかの局面ではそのような亜集団において特に堅固である、投与後の長期生存、増殖、および/または生着を改善するためなどの有効性を高めるために行われる。Terakura et al., (2012) Blood.1:72-82; Wang et al., (2012) J Immunother.35(9):689-701参照。いくつかの態様では、 T_{CM} に富むCD8⁺T細胞とCD4⁺T細胞とを組み合わせることは、有効性をさらに増強する。

【0243】

態様では、メモリーT細胞は、CD8⁺末梢血リンパ球のCD62L⁺およびCD62L⁻サブセットの両方に存在する。PBMCは、例えば抗CD8抗体および抗CD62L抗体を使用して、CD62L⁻CD8⁺および/またはCD62L⁺CD8⁺画分を濃縮または枯渇させることができる。

【0244】

いくつかの態様では、セントラルメモリーT(T_{CM})細胞の濃縮は、CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3、および/またはCD127の陽性または高表面発現に基づく; いくつかの局面では、それは、CD45RAおよび/またはグランザイムBを発現するかまたは高発現する細胞についての陰性選択に基づく。いくつかの局面では、TCM細胞が濃縮されたCD8⁺集団の単離は、CD4、CD14、CD45RAを発現する細胞の枯渇、およびCD62Lを発現する細胞の陽性選択または濃縮によって行われる。一局面では、セントラルメモリーT(TCM)細胞の濃縮は、CD4発現に基づいて選択された細胞の陰性画分から出発して、これをCD14およびCD45RAの発現に基づく陰性選択、ならびにCD62Lの発現に基づく陽性選択に供して行われる。いくつかの局面ではそのような選択は同時に行われ、他の局面では連続的にどちらの順序でも行われる。いくつかの局面では、CD8⁺細胞集団または亜集団を調製するのに使用されるのと同じCD4発現に基づく選択工程が、任意で1つまたは複数のさらなる陽性または陰性選択工程後に、CD4に基づく分離からの陽性および陰性画分の両方が保持され、方法のその後の工程で使用されるように、CD4⁺細胞集団または亜集団を生成するためにも用いられる。

【0245】

特定の例では、PBMCの試料または他の白血球試料を、陰性画分と陽性画分の両方が保持されるCD4⁺細胞の選択に供する。次いで、陰性画分を、CD14およびCD45RAまたはCD19の発現に基づく陰性選択、ならびにCD62LまたはCCR7などのセントラルメモリーT細胞に特徴的なマーカーに基づく陽性選択に供し、ここで陽性選択と陰性選択はどちらの順序でも行われる。

【0246】

CD4⁺Tヘルパー細胞は、細胞表面抗原を有する細胞集団を同定することによって、ナイーブ細胞、セントラルメモリー細胞、およびエフェクター細胞に分類される。CD4⁺リンパ球は標準的な方法によって得ることができる。いくつかの態様では、ナイーブCD4⁺Tリンパ球は、CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺、CD4⁺T細胞である。いくつかの態様では、セントラルメモリーCD4⁺細胞はCD62L⁺およびCD45RO⁺である。いくつかの態様では、エフェクターCD4⁺細胞はCD62L⁻およびCD45RO⁻である。

【0247】

一例では、陰性選択によってCD4⁺細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的にはCD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。いくつかの態様では、抗体または結合パートナーは、陽性および/または陰性選択のための細胞の分離を可能にする、磁気ビーズまたは常磁性ビーズなどの固体支持体またはマトリックスに結合される。例えば、いくつかの態様では、細胞および細胞集団は、免疫磁気(または親和性磁気)分離技術(Methods in Molecular Medicine, vol.58:Metastasis Research Protocols, Vol.2:Cell Behavior In vitro and In vivo, p 17-25 Edited by:S.A. Brooks and U.Schumacher(著作権) Humana Press Inc., Totowa, NJに総説されている)を用いて分離または単離される。

【0248】

いくつかの局面では、分離される細胞の試料または組成物は、小型の磁化可能または磁気応答性材料、例えば磁気応答性粒子または微粒子、例えば常磁性ビーズ(例えばDynalbeadsまたはMACSビーズなど)と共にインキュベートされる。磁気応答性材料、例えば粒子

10

20

30

40

50

は通常、分離することを所望する、例えば陰性または陽性選択することを所望する1つまたは複数の細胞、または細胞集団上に存在する分子、例えば表面マーカーに特異的に結合する結合パートナー、例えば抗体に直接または間接的に結合される。

【0249】

いくつかの態様では、磁性粒子またはビーズは、抗体または他の結合パートナーなどの特異的結合成員に結合した磁気応答性材料を含む。磁気分離方法に使用される多くの周知の磁気応答性材料がある。適切な磁性粒子としては、参照により本明細書に組み入れられる、Moldayの米国特許第4,452,773号、および欧州特許第452342B号に記載されているものが挙げられる。Owenの米国特許第4,795,698号およびLibertiらの米国特許第5,200,084号に記載されているもののようなコロイドサイズの粒子が他の例である。

10

【0250】

インキュベーションは通常、抗体もしくは結合パートナー、または磁性粒子もしくはビーズに付着している、そのような抗体もしくは結合パートナーに特異的に結合する二次抗体もしくは他の試薬などの分子が、試料中の細胞上に存在する場合は細胞表面分子に特異的に結合する条件下で行われる。

【0251】

いくつかの局面では、試料を磁場中に置き、磁気応答性粒子または磁化可能粒子が付着している細胞を磁石に引きつけ、非標識細胞から分離する。陽性選択の場合は、磁石に引き寄せられる細胞が保持される；陰性選択の場合は、引き寄せられない細胞（非標識細胞）が保持される。いくつかの局面では、陽性選択と陰性選択の組み合わせは同じ選択工程の間に行われ、この場合は陽性画分と陰性画分が保持され、さらに処理されるかまたはさらなる分離工程に供される。

20

【0252】

特定の態様では、磁気応答性粒子は、一次抗体または他の結合パートナー、二次抗体、レクチン、酵素、またはストレプトアビジンで被覆されている。特定の態様では、磁性粒子は、1つまたは複数のマーカーに特異的な一次抗体のコーティングを介して細胞に付着している。特定の態様では、ビーズではなく細胞を一次抗体または結合パートナーで標識し、次いで細胞型特異的二次抗体または他の結合パートナー（例えばストレプトアビジン）で被覆した磁性粒子を添加する。特定の態様では、ストレプトアビジン被覆磁性粒子を、ビオチン化一次抗体または二次抗体と組み合わせて使用する。

30

【0253】

いくつかの態様では、磁気応答性粒子は、その後インキュベート、培養および/または操作されることになる細胞に付着したままである；いくつかの局面では、粒子は患者への投与のための細胞に付着したままである。いくつかの態様では、磁化可能粒子または磁気応答性粒子は細胞から除去される。細胞から磁化可能粒子を除去する方法は公知であり、例えば競合する非標識抗体、および磁化可能粒子または切断可能なリンカーに結合した抗体の使用を含む。いくつかの態様では、磁化可能粒子は生分解性である。

【0254】

いくつかの態様では、親和性に基づく選択は、磁気活性化細胞選別（MACS）（Miltenyi Biotec, Auburn, CA）による。磁気活性化細胞選別（MACS）システムは、磁化された粒子が付着した細胞の高純度の選択が可能である。特定の態様では、MACSは、外部磁場の印加後に非標的種と標的種が連続的に溶出されるモードで動作する。すなわち、磁化粒子に付着した細胞は、付着していない種が溶出されている間、適所に保持される。次に、この最初の溶出工程が完了した後、磁場に捕捉されて溶出が妨げられていた種は、それらが溶出され、回収され得るように何らかの方法で解放される。特定の態様では、非標的細胞は標識され、細胞の不均一な集団から除去される。

40

【0255】

特定の態様では、単離または分離は、本発明の方法の単離、細胞調製、分離、処理、インキュベーション、培養、および/または製剤化工程のうちの1つまたは複数を実行するシステム、機器、または装置を用いて実施される。いくつかの局面では、システムは、例え

50

ばエラー、使用者の取り扱い、および/または汚染を最小限に抑えるために、これらの工程のそれぞれを閉鎖環境または無菌環境で実行するために使用される。一例では、システムは、国際特許出願公報第2009/072003号、または米国特許出願公開第20110003380A1号に記載されているシステムである。

【0256】

いくつかの態様では、システムまたは装置は、統合システムもしくは自己完結型システムで、および/または自動化されたもしくはプログラム可能な方式で、単離、処理、操作、および製剤化工程のうちの1つまたは複数、例えば全部を実行する。いくつかの局面では、システムまたは装置は、システムまたは装置に接続されたコンピュータおよび/またはコンピュータプログラムを含み、これにより、使用者が処理、単離、操作および製剤化工程をプログラムする、制御する、そのアウトカムを評価する、および/またはその様々な局面を調整することが可能になる。

【0257】

いくつかの局面では、分離および/または他の工程は、例えば閉鎖系および無菌系における臨床規模レベルでの細胞の自動分離のために、CliniMACSシステム (Miltenyi Biotec) を用いて行われる。構成要素には、統合マイクロコンピュータ、磁気分離ユニット、蠕動ポンプ、および様々なピンチバルブが含まれ得る。統合コンピュータは、いくつかの局面では、機器のすべての構成要素を制御し、標準化された順序で反復手順を実行するよう 10 にシステムに指示する。いくつかの局面における磁気分離ユニットは、可動永久磁石と選択カラム用のホルダとを含む。蠕動ポンプはチューブセット全体の流速を制御し、ピンチバルブと共に、システムを通る緩衝液の制御された流れおよび細胞の継続的な懸濁を確実にする。

【0258】

いくつかの局面におけるCliniMACSシステムは、滅菌非発熱性溶液中で供給される抗体結合磁化可能粒子を使用する。いくつかの態様では、細胞を磁性粒子で標識した後、細胞を洗浄して過剰の粒子を除去する。続いて細胞調製バッグをチューブセットに接続し、次に緩衝剤を含むバッグおよび細胞収集バッグにチューブセットを接続する。チューブセットは、プレカラムと分離カラムを含むあらかじめ組み立てられた滅菌チューブからなり、使い捨て専用である。分離プログラムの開始後、システムは自動的に細胞試料を分離カラムに適用する。標識細胞はカラム内に保持され、非標識細胞は一連の洗浄工程によって除去される。いくつかの態様では、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は標識されておらず、カラム内に保持されない。いくつかの態様では、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は標識されており、カラム内に保持される。いくつかの態様では、本明細書に記載の方法で使用するための細胞集団は、磁場の除去後にカラムから溶出され、細胞収集バッグ内に収集される。

【0259】

特定の態様では、分離および/または他の工程は、CliniMACS Prodigyシステム (Miltenyi Biotec) を使用して行われる。いくつかの局面におけるCliniMACS Prodigyシステムは、遠心分離による細胞の自動洗浄および分画を可能にする細胞処理ユニットを備える。CliniMACS Prodigyシステムはまた、ソース細胞産物の巨視的層を識別することによって最適な細胞分画エンドポイントを決定する搭載カメラおよび画像認識ソフトウェアを含み得る。例えば、末梢血は自動的に赤血球、白血球および血漿層に分離される。CliniMACS Prodigyシステムはまた、例えば細胞分化および増殖、抗原負荷、ならびに長期細胞培養などの細胞培養プロトコルを達成する統合細胞培養チャンバを含み得る。入力ポートは培地の無菌除去および補充を可能にし、細胞は統合顕微鏡を使用してモニタリングすることができる。例えばKlebanoff et al., (2012) J Immunother. 35 (9) :651-660, Terakura et al., (2012) Blood. 1:72-82およびWang et al., (2012) J Immunother. 35 (9) :689-701参照。

【0260】

いくつかの態様では、本明細書に記載の細胞集団はフローサイトメトリーによって収集

10

20

30

40

50

および濃縮（または枯渇）され、フローサイトメトリーでは、複数の細胞表面マーカーについて染色された細胞が流体流中で運ばれる。いくつかの態様では、本明細書に記載の細胞集団は、分取規模（FACS）選別によって収集および濃縮（または枯渇）される。特定の態様では、本明細書に記載の細胞集団は、FACSに基づく検出システムと組み合わせた微小電気機械システム（MEMS）チップの使用によって収集および濃縮（または枯渇）される（例えば国際公開公報第WO2010/033140号、Cho et al., (2010) Lab Chip 10, 1567-1573；およびGodin et al., (2008) J Biophoton. 1 (5) :355-376参照）。どちらの場合も、細胞を複数のマーカーで標識して、明確に定義されたT細胞サブセットを高純度で単離することができる。

【0261】

10

いくつかの態様では、抗体または結合パートナーは、陽性選択および/または陰性選択のための分離を容易にするために、1つまたは複数の検出可能なマーカーで標識される。例えば、分離は蛍光標識抗体への結合に基づき得る。いくつかの例では、1つまたは複数の細胞表面マーカーに特異的な抗体または他の結合パートナーの結合に基づく細胞の分離は、例えばフローサイトメトリー検出システムと組み合わせた、分取規模（FACS）および/または微小電気機械システム（MEMS）チップを含む蛍光活性化細胞選別（FACS）などによって流体流中で行われる。そのような方法は、同時に複数のマーカーに基づく陽性選択および陰性選択を可能にする。

【0262】

20

いくつかの態様では、調製方法は、単離、インキュベーション、および/または操作の前または後のいずれかに、細胞を凍結する、例えば凍結保存する工程を含む。いくつかの態様では、凍結およびその後の解凍工程は、細胞集団中の顆粒球および、ある程度まで、単球を除去する。いくつかの態様では、細胞は、例えば血漿および血小板を除去するための洗浄工程の後に、凍結溶液中に懸濁される。いくつかの局面では様々な公知の凍結溶液およびパラメータのいずれを使用してもよい。一例は、20%DMSOおよび8%ヒト血清アルブミン（HSA）を含有するPBS、または他の適切な細胞凍結培地を使用することを含む。次にこれを培地で1:1に希釈して、DMSOおよびHSAの最終濃度がそれぞれ10%および4%になるようにする。次いで細胞を概ね毎分1°の速度で-80°に凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相中で保存する。

【0263】

30

いくつかの態様では、細胞は、遺伝子操作の前またはそれに関連してインキュベートおよび/または培養される。インキュベーション工程は、培養、刺激、活性化、および/または増殖を含み得る。インキュベーションおよび/または操作は、ユニット、チャンバ、ウェル、カラム、チューブ、チューブセット、バルブ、バイアル、培養皿、バッグ、または細胞を培養するための他の容器などの培養容器中で実施され得る。いくつかの態様では、組成物または細胞は、刺激条件または刺激物質の存在下でインキュベートされる。そのような条件には、集団中の細胞の増殖、拡大、活性化、および/もしくは生存を誘導する、抗原曝露を模倣する、ならびに/または組換え抗原受容体の導入などの遺伝子操作のために細胞をプライミングするように設計されたものが含まれる。

【0264】

40

条件は、特定の培地、温度、酸素含量、二酸化炭素含量、時間、作用物質、例えば栄養素、アミノ酸、抗生物質、イオン、および/または刺激因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、抗原、結合パートナー、融合タンパク質、組換え可溶性受容体、および細胞を活性化するように設計された他の任意の剤の1つまたは複数を含み得る。

【0265】

50

いくつかの態様では、刺激条件または刺激物質は、TCR複合体の細胞内シグナル伝達ドメインを活性化することができる1つまたは複数の作用物質、例えばリガンドを含む。いくつかの局面では、作用物質は、T細胞におけるTCR/CD3細胞内シグナル伝達カスケードを作動または開始させる。そのような作用物質には、TCRに特異的なものなどの抗体、例えば抗CD3が含まれ得る。いくつかの態様では、刺激条件は、共刺激受容体、例えば抗CD28

を刺激することができる1つまたは複数の作用物質、例えばリガンドを含む。いくつかの態様では、そのような作用物質および/またはリガンドは、ビーズなどの固体支持体および/または1つもしくは複数のサイトカインに結合し得る。任意で、増殖方法は、抗CD3抗体および/または抗CD28抗体を培地に（例えば少なくとも約0.5ng/mlの濃度で）添加する工程をさらに含み得る。いくつかの態様では、刺激物質は、IL-2、IL-15、および/またはIL-7を含む。いくつかの局面において、IL-2濃度は、少なくとも約10単位/mLである。

【0266】

いくつかの局面では、インキュベーションは、Riddellらの米国特許第6,040,177号、Klebanoff et al., (2012) J Immunother. 35 (9) :651-660, Terakura et al., (2012) Blood. 120:72-82、および/またはWang et al., (2012) J Immunother. 35 (9) :689-701に記載されているような技術に従って行われる。

10

【0267】

いくつかの態様では、T細胞は、培養開始組成物に、非分裂末梢血単核細胞（PBMC）などのフィーダ細胞を添加すること（例えば、得られる細胞集団が、増殖させるべき初期集団中の各Tリンパ球につき少なくとも約5、10、20、または40またはそれ以上のPBMCフィーダ細胞を含むように）、および培養物をインキュベートすること（例えばT細胞の数を増やすのに十分な時間）によって増殖される。いくつかの局面では、非分裂フィーダ細胞は、線照射PBMCフィーダ細胞を含み得る。いくつかの態様では、PBMCは、細胞分裂を防ぐために約3000～3600ラドの範囲の線を照射される。いくつかの局面では、フィーダ細胞は、T細胞集団の添加の前に培地に添加される。

20

【0268】

いくつかの態様では、刺激条件は、ヒトTリンパ球の増殖に適した温度、例えば少なくとも約25、通常少なくとも約30、通常37または約37を含む。任意で、インキュベーションは、非分裂EBV形質転換リンパ芽球様細胞（LCL）をフィーダ細胞として添加することをさらに含み得る。LCLは、約6000～10,000ラドの範囲の線で照射することができる。いくつかの局面におけるLCLフィーダ細胞は、少なくとも約10:1のLCLフィーダ細胞対初期Tリンパ球の比率などの、任意の適切な量で提供される。

20

【0269】

態様では、抗原特異的CD4⁺および/またはCD8⁺T細胞などの抗原特異的T細胞は、ナイーブまたは抗原特異的Tリンパ球を抗原で刺激することによって得られる。例えば、サイトメガロウイルス抗原に対する抗原特異的T細胞株またはクローンは、感染した対象からT細胞を単離し、同じ抗原で細胞をインビトロで刺激することによって生成することができる。

30

【0270】

C. 遺伝子操作のためのベクターおよび方法

遺伝子操作した成分、例えば組換え受容体、例えばCARまたはTCRの導入のための様々な方法が周知であり、提供される方法および組成物と共に使用されてもよい。例示的な方法には、ウイルス（例えば、レトロウイルスまたはレンチウイルス）による形質導入、トランスポゾンおよびエレクトロポレーションによる方法を含めて、受容体をコードする核酸を移入するための様々な方法が含まれる。

40

【0271】

いくつかの態様において、組換え核酸が、組換え感染性ウイルス粒子（例えば、シミアンウイルス40（SV40）、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス（AAV）に由来するベクターなど）を使用して細胞に移入される。いくつかの態様において、組換え核酸が、組換えのレンチウイルスベクターまたはレトロウイルスベクター（例えば、ガンマ-レトロウイルスベクターなど）を使用してT細胞に移入される（例えば、Koste et al. (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3.doi:10.1038/gt.2014.25 ; CARlens et al. (2000) Exp Hematol 28 (10) :1137-46 ; Alonso-Camino et al. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2,e93 ; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29 (11) :550-557を参照のこと）。

【0272】

50

いくつかの態様において、レトロウイルスベクターは長末端反復配列（LTR）を有する（例えば、モロニーマウス白血病ウイルス（MoMLV）、骨髄増殖性肉腫ウイルス（MPSV）、マウス胚性幹細胞ウイルス（MESV）、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）、脾臓フォーカス形成ウイルス（SFFV）またはアデノ関連ウイルス（AAV）に由来するレトロウイルスベクター）。ほとんどのレトロウイルスベクターがマウスレトロウイルスに由来する。いくつかの態様において、レトロウイルスには、任意の鳥類細胞供給源または哺乳動物細胞供給源に由来するレトロウイルスが含まれる。レトロウイルスは典型的には両向性であり、このことは、レトロウイルスは、ヒトを含めて数種の生物種の宿主細胞に感染することができるこ意味している。1つの態様において、発現されることになる遺伝子が、レトロウイルスのgag配列、pol配列および/またはenv配列に取って代わる。いくつかの例示的なレトロウイルスシステムが記載されている（例えば、米国特許第5,219,740号、同第6,207,453号、同第5,219,740号；Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990；Miller, A.D. (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14；Scarpa et al. (1991) *Virology* 180:849-852；Burns et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037；およびBoris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109）。

10

【0273】

レンチウイルス形質導入の様々な方法が公知である。例示的な方法が、例えば、Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35 (9) :689-701；Cooper et al. (2003) *Blood* 101:1637-1644；Verhoeyen et al. (2009) *Methods Mol Biol.* 506:97-114；およびCavalieri et al. (2003) *Blood* 102 (2) :497-505に記載される。

20

【0274】

いくつかの態様において、組換え核酸がエレクトロポレーションによりT細胞に移入される（例えば、Chicaybam et al. (2013) *PLoS ONE* 8 (3) :e60298、およびVan Tedeeloo et al. (2000) *Gene Therapy* 7 (16) :1431-1437を参照のこと）。いくつかの態様において、組換え核酸が転位によりT細胞に移入される（例えば、Manuri et al. (2010) *Hum Gene Ther* 21 (4) :427-437；Sharma et al. (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74；およびHuang et al. (2009) *Methods Mol Biol* 506:115-126を参照のこと）。遺伝物質を免疫細胞において導入し、発現させる他の方法には、リン酸カルシウムトランスクレクション（例えば、*Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley & Sons, New York, N.Y.) に記載されるようなリン酸カルシウムトランスクレクション）、プロトプラスト融合、カチオン性リポソーム媒介のトランスクレクション、タンゲステン粒子によって促進される微小粒子照射 (Johnston, *Nature*, 346:776-777 (1990))、およびリン酸ストロンチウムDNA共沈殿 (Brash et al., *Mol. Cell Biol.*, 7:2031-2034 (1987)) が含まれる。

30

【0275】

組換え産物をコードする核酸を移入するための他の取り組みおよびベクターが、例えば、国際特許出願公開番号WO2014055668および米国特許第7,446,190号に記載される取り組みおよびベクターである。

【0276】

いくつかの態様において、細胞、例えば、T細胞は、拡大期間中または拡大後のどちらかで、例えば、T細胞受容体（TCR）またはキメラ抗原受容体（CAR）によるトランスクレクションが行われる場合がある。所望の受容体の遺伝子を導入するためのこのトランスクレクションを、例えば、任意の好適なレトロウイルスベクターを用いて行うことができる。遺伝子改変された細胞集団はその後、最初の刺激（例えば、CD3/CD28刺激）から解放し、続いて、第2のタイプの刺激により、例えば、新たに導入された受容体を介して刺激することができる。この第2のタイプの刺激には、ペプチド/MHC分子、遺伝子導入された受容体の同族（架橋性）リガンド（例えば、CARの天然リガンド）、または（例えば、受容体内の定常領域を認識することによって）新しい受容体のフレームワークの内部に直接に結合する任意のリガンド（例えば、抗体など）の形態での抗原性刺激が含まれる場合がある。例えば、Cheadle et al., "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" *Methods Mol Biol.* 2012 ; 907:645-66、またはBarrett et al.、*Chimeric Antigen Rec*

40

50

eptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol.65:333-347 (2014) を参照のこと。

【 0 2 7 7 】

いくつかの場合において、細胞（例えば、T細胞）が活性化されることを必要としないベクターが使用されることがある。いくつかのそのような例において、細胞は、選択および/または形質導入が活性化に先立って行われることがある。したがって、細胞は、該細胞を培養する前に、または培養した後で、そのうえ、いくつかの場合には該培養の少なくとも一部と同時に、またはその期間中に操作されることがある。

【 0 2 7 8 】

いくつかの局面において、細胞はさらに、サイトカインまたは他の因子の発現を促進するように操作される。さらなる核酸、例えば、導入のための遺伝子には、治療の有効性を、例えば、移入された細胞の生存性および/または機能を促進することなどによって改善するための核酸；細胞の選択および/または評価のための遺伝子マーカーを提供するための遺伝子、例えば、インビオでの生存または局在化を評価するためなどの遺伝子；安全性を、例えば、Lupton S.D. et al., Mol. and Cell Biol., 11:6 (1991) 、およびRiddell et al., Human Gene Therapy 3:319-338 (1992) によって記載されるように細胞をインビオでの陰性選択に対して感受性にすることによって改善するための遺伝子が挙げられる。また、優勢な陽性選択マーカーを陰性選択マーカーと融合することから得られる二官能性の選択可能な融合遺伝子の使用を記載する、LuptonらによるPCT/US91/08442およびPCT/US 94/05601の公開公報もまた参照のこと。例えば、Riddellら、米国特許第6,040,177号、第14欄～第17欄を参照のこと。

10

20

20

30

30

【 0 2 7 9 】

いくつかの状況では、刺激因子（例えばリンホカインまたはサイトカイン）の過剰発現は、対象にとって毒性であり得る。したがって、いくつかの状況では、操作された細胞は、養子免疫療法における投与時などに、細胞をインビオでのネガティブ選択を受けやすくなる遺伝子セグメントを含む。例えば、いくつかの局面では、細胞は、それらが投与される対象のインビオ状態の変化の結果として排除され得るように操作される。ネガティブ選択可能表現型は、投与される作用物質、例えば化合物に対する感受性を付与する遺伝子の挿入から生じ得る。ネガティブ選択可能遺伝子には、ガンシクロビル感受性を付与する単純ヘルペスウイルス1型チミジンキナーゼ (HSV-1 TK) 遺伝子 (Wigler et al., Cell 2:23, 1977) ；細胞ヒボキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子、細胞アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (APRT) 遺伝子、細菌シトシンデアミナーゼが含まれる (Mullen et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA.89:33 (1992)) 。

30

30

【 0 2 8 0 】

いくつかの態様では、単一のプロモーターが、単一のオープンリーディングフレーム (ORF) 内に、自己切断ペプチド（例えば2A配列）またはプロテアーゼ認識部位（例えばフリン）をコードする配列によって互いに分離された2つまたは3つの遺伝子（例えば代謝経路の調節に関する分子をコードする、および組換え受容体をコードする）を含むRNAの発現を指令し得る。したがってORFは、翻訳中（2Aの場合）または翻訳後のいずれかに、個々のタンパク質にプロセシングされる単一のポリペプチドをコードする。いくつかの場合には、T2Aなどのペプチドは、リボソームに2AエレメントのC末端でのペプチド結合の合成をスキップさせることができ（リボソームスキップ機構）、2A配列の末端と次の下流ペプチドとの間の分離をもたらす（例えばde Felipe. Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004) およびde Felipe et al. Traffic 5:616-626 (2004) 参照）。多くの2Aエレメントが公知である。本明細書で開示される方法および核酸において使用できる2A配列の例としては、限定されることなく、米国特許出願公開第20070116690号に記載されている口蹄疫ウイルス (F2A、例えばSEQ ID NO : 21) 、ウマ鼻炎Aウイルス (E2A、例えばSEQ ID NO : 20) 、トセア・アシグナ (Thosea asigna) ウイルス (T2A、例えばSEQ ID NO : 6または17) 、およびブタテスコウイルス1 (P2A、例えばSEQ ID NO : 18または19) からの2A配列。

40

40

【 0 2 8 1 】

50

III. 組成物および製剤

いくつかの態様では、細胞療法は、薬学的組成物または製剤などの組成物または製剤として提供される。そのような組成物は、提供される方法に従って、例えば疾患、状態、および障害の予防もしくは治療において、または検出方法、診断方法、および予後判定方法において使用することができる。

【0282】

「薬学的製剤」という用語は、その中に含まれる活性成分の生物学的活性を有効にするような形態であり、製剤が投与される対象に対して許容できないほど毒性である追加成分を含まない調製物を指す。

【0283】

「薬学的に許容される担体」は、対象に対して非毒性である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、緩衝剤、賦形剤、安定剤、または防腐剤を含むが、これらに限定されるわけではない。

【0284】

いくつかの態様では、操作されたT細胞（例えばCAR T細胞）などのT細胞療法は、薬学的に許容される担体と共に製剤化される。いくつかの局面では、担体の選択は、一部には特定の細胞によっておよび/または投与方法によって決定される。したがって、種々の適切な製剤が存在する。例えば、薬学的組成物は防腐剤を含み得る。適切な防腐剤としては、例えばメチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、および塩化ベンザルコニウムが挙げられ得る。いくつかの局面では、2つまたはそれ以上の防腐剤の混合物が使用される。防腐剤またはその混合物は、典型的には全組成物の約0.0001重量%から約2重量%の量で存在する。担体は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A.Ed. (1980) に記載されている。薬学的に許容される担体は通常、用いられる投与量および濃度でレシピエントに非毒性であり、以下のものが含まれるが、これらに限定されるわけではない：リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペントノールおよびm-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンもしくはリジンなどのアミノ酸；单糖類、二糖類、およびグルコース、マンノースもしくはデキストリンを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばZn-タンパク質錯体）；ならびに/またはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン界面活性剤。

【0285】

いくつかの局面では緩衝剤が組成物に含まれる。適切な緩衝剤としては、例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、ならびに他の様々な酸および塩が挙げられる。いくつかの局面では、2つまたはそれ以上の緩衝剤の混合物が使用される。緩衝剤またはその混合物は、典型的には全組成物の約0.001重量%から約4重量%の量で存在する。投与可能な薬学的組成物を調製するための方法は公知である。例示的な方法は、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005) においてより詳細に記載されている。

【0286】

製剤は水溶液を含み得る。製剤または組成物はまた、活性が細胞に相補的であるおよび/またはそれぞれの活性が互いに悪影響を及ぼさない1つまたは複数の活性成分を含む、細胞で予防または治療される特定の適応症、疾患、または状態に有用な複数の活性成分を含み得る。そのような活性成分は、意図される目的のために有効な量で組み合わせて適切に

10

20

30

40

50

存在する。したがって、いくつかの態様では、薬学的組成物は、化学療法剤、例えばアスピラギナーゼ、ブルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、メトトレキサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンプラスチン、ビンクリスチン等のような他の薬学的に活性な剤または薬物をさらに含む。

【0287】

いくつかの態様における薬学的組成物は、治療上有効な量または予防上有効な量などの疾患または状態を治療または予防するために有効な量で細胞を含む。いくつかの態様における治療または予防の有効性は、治療対象の定期的な評価によってモニタリングされる。数日間またはそれ以上にわたる反復投与については、状態に応じて、疾患症状の所望の抑制が起こるまで治療が繰り返される。しかしながら、他の投与レジメンも有用であり得、決定され得る。所望の投与量は、組成物の単回ボーラス投与によって、組成物の複数回ボーラス投与によって、または組成物の持続注入投与によって送達することができる。

10

【0288】

細胞は、標準的な投与技術、製剤、および/または装置を用いて投与され得る。組成物の保存および投与のための、注射器およびバイアルなどの製剤および装置が提供される。細胞に関して、投与は自己由来または異種であり得る。例えば、免疫応答性細胞または前駆体は、一対象から得ることができ、同じ対象または異なる、適合性の対象に投与され得る。末梢血由来免疫応答性細胞またはそれらの子孫（例えばインビボ、エクスビボまたはインビトロ由来）は、カテーテル投与、全身注入、局所注入、静脈内注射、または非経口投与を含む局所注入によって投与することができる。治療用組成物（例えば遺伝子改変された免疫応答性細胞を含む薬学的組成物）を投与する場合、治療用組成物は通常、単位投与注射形態（溶液、懸濁液、エマルジョン）に製剤化される。

20

【0289】

製剤には、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、肺投与、経皮投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、口腔投与、舌下投与、または坐剤投与用のものが含まれる。いくつかの態様では、剤または細胞集団は非経口投与される。本明細書で使用される「非経口」という用語は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸投与、腔内投与、および腹腔内投与を含む。いくつかの態様では、剤または細胞集団は、静脈内、腹腔内、または皮下注射による末梢全身送達を用いて対象に投与される。

30

【0290】

いくつかの態様における組成物は、いくつかの局面では選択されたpHに緩衝され得る、滅菌液体製剤、例えば等張水溶液、懸濁液、エマルジョン、分散液、または粘性組成物として提供される。液体製剤は通常、ゲル、他の粘性組成物、および固体組成物よりも調製が容易である。さらに、液体組成物は、特に注射によって投与するのにいくぶんより便利である。他方で、粘性組成物は、特定の組織とのより長い接触期間を提供する適切な粘度範囲内に製剤化することができる。液体または粘性組成物は担体を含むことができ、担体は、例えば水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール）およびそれらの適切な混合物を含む溶媒または分散媒であり得る。

40

【0291】

滅菌注射溶液は、適切な担体、希釈剤、または賦形剤、例えば滅菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロース等との混合物などの溶媒中に細胞を組み込むことによって調製することができる。組成物は凍結乾燥することもできる。組成物は、所望される投与経路および製剤に依存して、湿潤剤、分散剤または乳化剤（例えばメチルセルロース）、pH緩衝剤、ゲル化または増粘添加剤、防腐剤、香味剤、着色剤等のような補助物質を含有し得る。いくつかの局面では、標準的なテキストを参考にして適切な製剤を調製し得る。

【0292】

抗菌防腐剤、抗酸化剤、キレート剤、および緩衝剤を含む、組成物の安定性および無菌性を高める様々な添加剤を添加することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤

50

および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸等によって確実にすることができる。注射用医薬形態の持続的吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの使用によってもたらされ得る。

【0293】

インビポ投与に使用される製剤は通常は無菌である。無菌性は、例えば滅菌濾過膜を通して濾過することによって容易に達成され得る。

【0294】

疾患の予防または治療のために、適切な投与量は、治療される疾患の種類、1つまたは複数の剤の種類、細胞または組換え受容体の種類、疾患の重症度および経過、剤または細胞が予防目的または治療目的のいずれで投与されるか、過去の療法、対象の病歴および剤または細胞に対する応答、ならびに主治医の裁量に依存し得る。組成物は、いくつかの態様では、一度にまたは一連の治療にわたって対象に適切に投与される。

10

【0295】

IV. 治療および方法

いくつかの態様では、提供される方法は、様々な腫瘍を含む疾患または状態の治療などのための細胞療法の投与に関連する。方法は、疾患または状態に関連する分子を認識し、および/またはそれに特異的に結合して、そのような分子への結合時にそのような分子に対する免疫応答などの応答をもたらすように設計された組換え受容体を発現する操作された細胞を投与することを含む。受容体は、キメラ受容体、例えばキメラ抗原受容体 (CAR) 、および本明細書に記載のものを含むトランスジェニックT細胞受容体 (TCR) を含む他のトランスジェニック抗原受容体を含み得る。いくつかの態様では、提供される方法の後に、操作された細胞が存在するか存在する可能性がある、または存在したか存在した可能性がある対象の区域を破壊することなどによって、対象においてインビポで組換え免疫細胞を再拡大する方法が続く。いくつかの態様では、その区域は、病変、例えば腫瘍、または病変の微小環境、例えば腫瘍微小環境などの操作された細胞によって認識される抗原発現細胞を含む区域であり得る。

20

【0296】

いくつかの態様では、癌を含む疾患、状態、および障害を治療または予防するために、組換え受容体を発現する細胞の一定用量が対象に投与される。いくつかの態様では、細胞、集団、および組成物は、例えば養子T細胞療法などの養子細胞療法を介して、治療される特定の疾患または状態を有する対象または患者に投与される。いくつかの態様では、操作された組成物ならびにインキュベーションおよび/または他の処理工程後の最終組成物などの細胞および組成物は、疾患または状態を有するかまたはその危険性がある対象などの対象に投与される。いくつかの局面では、この方法は、操作されたT細胞によって認識される抗原を発現する癌における腫瘍量を減らすことなどによって、疾患または状態の1つまたは複数の症状を治療する、例えば改善する。

30

【0297】

養子細胞療法のための細胞の投与方法は公知であり、提供される方法および組成物と関連して使用し得る。例えば、養子T細胞療法の方法は、例えばGruenbergらの米国特許出願公開第2003/0170238号； Rosenbergの米国特許第4,690,915号； Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8 (10) :577-85) に記載されている。例えばThemeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31 (10) :928-933 ; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438 (1) :84-9 ; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8 (4) :e61338参照。

40

【0298】

治療される疾患または状態は、抗原の発現が疾患状態または障害の病因に関連および/または関与する、例えばそのような疾患、状態、または障害を引き起こす、増悪させる、または他の方法で関与する任意のものであり得る。例示的な疾患および状態には、悪性腫瘍もしくは細胞の形質転換 (例えば癌) 、自己免疫もしくは炎症性疾患、または、例えば細菌、ウイルスもしくは他の病原体によって引き起こされる感染性疾患が含まれ得る。治療することができる様々な疾患および状態に関連する抗原を含む例示的な抗原は上記に記

50

載されている。特定の態様では、キメラ抗原受容体またはトランスジェニックTCRは、疾患または状態に関連する抗原に特異的に結合する。

【0299】

疾患、状態、および障害の中には、 固形腫瘍、 血液悪性腫瘍、 および黒色腫を含み、 ならびに限局性および転移性腫瘍、 ウィルスまたは他の病原体、 例えはHIV、 HCV、 HBV、 CMVによる感染および寄生虫病などの感染性疾患、 ならびに自己免疫疾患および炎症性疾患がある。 いくつかの態様では、 疾患または状態は、 肿瘍、 癌、 悪性腫瘍、 新生物、 または他の増殖性疾患もしくは障害である。 そのような疾患には、 白血病、 リンパ腫、 例えは慢性リンパ性白血病 (CLL) 、 急性リンパ球性白血病 (ALL) 、 非ホジキンリンパ腫、 急性骨髓性白血病、 多発性骨髓腫、 難治性濾胞性リンパ腫、 マントル細胞リンパ腫、 無痛性B細胞リンパ腫、 B細胞悪性腫瘍、 結腸癌、 肺癌、 肝臓、 乳癌、 前立腺癌、 卵巣癌、 皮膚癌、 黒色腫、 骨癌、 脳の癌、 卵巣癌、 上皮癌、 腎細胞癌、 脾臓腺癌、 ホジキンリンパ腫、 子宮頸癌、 結腸直腸癌、 神経膠芽腫、 神経芽腫、 ユーアイング肉腫、 髄芽腫、 骨肉腫、 滑膜肉腫、 および/または中皮腫が含まれるが、 これらに限定されるわけではない。 いくつかの態様では、 対象は急性リンパ球性白血病 (ALL) を有する。 いくつかの態様では、 対象は非ホジキンリンパ腫を有する。

10

【0300】

いくつかの態様では、 疾患または状態は、 ウィルス、 レトロウイルス、 細菌、 および原虫感染、 免疫不全、 サイトメガロウイルス (CMV) 、 エプスタイン-バーウイルス (EBV) 、 アデノウイルス、 BKポリオーマウイルスなどの、 しかしこれらに限定されるわけではない感染性疾患または状態である。 いくつかの態様では、 疾患または状態は、 関節炎、 例えは関節リウマチ (RA) 、 I型糖尿病、 全身性エリテマトーデス (SLE) 、 炎症性腸疾患、 乾癬、 強皮症、 自己免疫性甲状腺疾患、 グレーブス病、 クローン病、 多発性硬化症、 喘息、 および/または移植に関連する疾患または状態などの自己免疫または炎症性疾患または状態である。

20

【0301】

いくつかの態様では、 疾患または障害に関連する抗原は、 α 6インテグリン (avb6インテグリン) 、 B細胞成熟抗原 (BCMA) 、 B7-H3、 B7-H6、 炭酸アンヒドラーーゼ9 (CA9、 CAIXまたはG250として知られる) 、 癌-精巣抗原、 癌/精巣抗原1B (CTAG、 NY-ESO-1およびLAG E-2としても知られる) 、 癌胎児性抗原 (CEA) 、 サイクリン、 サイクリンA2、 C-Cモチーフケモカインリガンド1 (CCL-1) 、 CD19、 CD20、 CD22、 CD23、 CD24、 CD30、 CD33、 CD38、 CD44、 CD44v6、 CD44v7/8、 CD123、 CD138、 CD171、 上皮成長因子タンパク質 (EGFR) 、 トランケート型上皮成長因子タンパク質 (tEGFR) 、 III型上皮成長因子受容体変異 (EGFR α III) 、 上皮糖タンパク質2 (EPG-2) 、 上皮糖タンパク質40 (EPG-40) 、 エフリンB2、 エフリン受容体A2 (EPHA2) 、 エストロゲン受容体、 Fc受容体様5 (FCRL5； Fc受容体ホモログ5またはFCRH5としても知られる) 、 胎児アセチルコリン受容体 (胎児AchR) 、 葉酸結合タンパク質 (FBP) 、 葉酸受容体、 胎児アセチルコリン受容体、 ガングリオシドGD2、 O-アセチル化GD2 (OGD2) 、 ガングリオシドGD3、 糖タンパク質100 (gp100) 、 Gタンパク質共役型受容体5D (GPCR5D) 、 Her2/neu (受容体型チロシンキナーゼerbB2) 、 Her3 (erb-B3) 、 Her4 (erb-B4) 、 erbB二量体、 ヒト高分子量黒色腫関連抗原 (HMW-MAA) 、 B型肝炎表面抗原、 ヒト白血球抗原A1 (HLA-A1) 、 ヒト白血球抗原A2 (HLA-A2) 、 IL-22受容体 (IL-22R) 、 IL-13受容体2 (IL-13R2) 、 キナーゼ挿入ドメイン受容体 (kdr) 、 軽鎖、 L1細胞接着分子 (L1CAM) 、 L1-CAMのCE7エピトープ、 ロイシンリッチリピート含有8ファミリーメンバーA (LRRC8A) 、 ルイスY、 黒色腫関連抗原 (MAGE) -A1、 MAGE-A3、 MAGE-A6、 メソテリン、 c-Met、 マウスサイトメガロウイルス (CMV) 、 ムチン1 (MUC1) 、 MUC16、 ナチュラルキラーグループ2メンバーD (NKG2D) リガンド、 メランA (MART-1) 、 神経細胞接着分子 (NCAM) 、 胎児腫瘍性抗原、 黒色腫の優先発現抗原 (PRAME) 、 プログステロン受容体、 前立腺特異抗原、 前立腺幹細胞抗原 (PSCA) 、 前立腺特異的膜抗原 (PSMA) 、 受容体型チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) 、 サバイビン、 栄養膜糖タンパク質 (TPBG、 5T4としても知られる) 、 肿瘍関連糖タンパク質72 (TAG72) 、 血管内

30

40

50

皮増殖因子受容体（VEGFR）、血管内皮増殖因子受容体2（VEGFR2）、ウィルムス腫瘍1（WT-1）、病原体特異的抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、および/またはビオチン化分子、および/またはHIV、HCV、HBVもしくは他の病原体によって発現される分子の中から選択される抗原であるかまたはそれを含む。いくつかの態様において受容体によって標的とされる抗原は、多くの公知のB細胞マーカーのいずれかなどの、B細胞悪性腫瘍に関連する抗原を含む。いくつかの態様では、受容体によって標的とされる抗原は、CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、IgG、IgM、CD79a、CD79bまたはCD30であるかまたはそれを含む。いくつかの態様では、抗原は、病原体特異的抗原または病原体発現抗原であるかまたはそれを含む。いくつかの態様では、抗原は、ウイルス抗原（例えばHIV、HCV、HBV等からのウイルス抗原）、細菌抗原、および/または寄生虫抗原である。

10

【0302】

いくつかの態様では、細胞療法、例えば養子T細胞療法は、細胞が、細胞療法を受けることになっている対象からまたはそのような対象に由来する試料から単離されるおよび/または別の方法で調製される、自己移植によって行われる。したがって、いくつかの局面では、細胞は、治療を必要とする対象、例えば患者に由来し、単離および処理後に同じ対象に投与される。

【0303】

いくつかの態様では、細胞療法、例えば養子T細胞療法は、細胞が、細胞療法を受けることになっているまたは最終的に細胞療法を受ける対象、例えば第一の対象以外の対象から単離されるおよび/または別の方法で調製される、同種異系移植によって行われる。そのような態様では、細胞は、次いで、同じ種の異なる対象、例えば第二の対象に投与される。いくつかの態様では、第一および第二の対象は遺伝的に同一である。いくつかの態様では、第一および第二の対象は遺伝的に類似する。いくつかの態様では、第二の対象は第一の対象と同じHLAクラスまたはスーパー・タイプを発現する。

20

【0304】

細胞は、任意の適切な手段、例えばボーラス注入によって、注射、例えば静脈内または皮下注射、眼内注射、眼周囲注射、網膜下注射、硝子体内注射、経中隔注射、強膜下注射、脈絡膜内注射、前房内注射、結膜下注射、結膜下注射、テノン囊下注射、眼球後注射、眼球周囲注射、または後傍強膜送達によって投与することができる。いくつかの態様では、それらは、非経口投与、肺内投与、および鼻腔内投与、ならびに局所治療のために所望する場合は、病巣内投与によって投与される。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。いくつかの態様では、細胞の単回ボーラス投与によって所与の用量が投与される。いくつかの態様では、所与の用量は、例えば3日以下の期間にわたる細胞の複数回ボーラス投与によって、または細胞の持続注入投与によって投与される。

30

【0305】

疾患の予防または治療のために、適切な投与量は、治療される疾患の種類、細胞または組換え受容体の種類、疾患の重症度および経過、細胞が予防目的または治療目的のいずれで投与されるか、過去の療法、対象の病歴および細胞に対する応答、ならびに主治医の裁量に依存し得る。組成物および細胞は、いくつかの態様では、一度にまたは一連の治療にわたって対象に適切に投与される。

40

【0306】

いくつかの態様では、細胞は、抗体または操作された細胞または受容体または細胞傷害性薬剤もしくは治療薬などの剤などの別の治療的介入と同時にまたは任意の順序で連続的になどの、併用治療の一部として投与される。いくつかの態様における細胞は、1つまたは複数の追加の治療薬と共に、または別の治療的介入と組み合わせて、同時にまたは任意の順序で連続的に共投与される。いくつかの状況では、細胞は、細胞集団が1つもしくは複数の追加の治療薬の作用を増強するように、またはその逆も同様であるように、時間的に十分に近い別の療法と共に投与される。いくつかの態様では、細胞は、1つまたは複数の追加の治療薬の前に投与される。いくつかの態様では、細胞は、1つまたは複数の追加の治療薬の前に投与される。

50

治療薬の後に投与される。いくつかの態様では、1つまたは複数の追加の剤は、例えば持続性を高めるための、IL-2などのサイトカインを含む。いくつかの態様では、方法は化学療法剤の投与を含む。いくつかの場合には、そのような治療薬は、病変を破壊するために提供される方法において使用される剤と同じではない。

【0307】

いくつかの態様では、方法は、例えば投与前の腫瘍量を減らすための化学療法剤、例えばコンディショニング化学療法剤の投与を含む。

【0308】

免疫除去療法（例えばリンパ枯渇療法）で対象を前処置することは、いくつかの局面では、養子細胞療法（ACT）の効果を改善することができる。

10

【0309】

したがって、いくつかの態様では、方法は、細胞療法の開始前に、リンパ球枯渇剤または化学療法剤、例えばシクロホスファミド、フルダラビン、またはそれらの組み合わせなどの前処置剤を対象に投与することを含む。例えば、対象は、細胞療法の開始の少なくとも2日前、例えば少なくとも3、4、5、6、または7日前に前処置剤を投与され得る。いくつかの態様では、対象は、細胞療法の開始前7日以内、例えば開始前6、5、4、3、または2日以内に前処置剤を投与される。

【0310】

いくつかの態様では、対象は、20mg/kg ~ 100mg/kgまたは約20mg/kg ~ 100mg/kg、例えば40mg/kg ~ 80mg/kgまたは約40mg/kg ~ 80mg/kgの用量のシクロホスファミドで前処置される。いくつかの態様では、対象は、60mg/kgまたは約60mg/kgのシクロホスファミドで前処置される。いくつかの態様では、シクロホスファミドは、単回用量で投与され得るか、または毎日、隔日もしくは3日ごとに投与されるような複数回用量で投与され得る。いくつかの態様では、シクロホスファミドは、1日1回、1日または2日間投与される。

20

【0311】

いくつかの態様では、リンパ球枯渇剤がフルダラビンを含む場合、対象に、1mg/m² ~ 100mg/m²または約1mg/m² ~ 100mg/m²、例えば10mg/m² ~ 75mg/m²、15mg/m² ~ 50mg/m²、20mg/m² ~ 30mg/m²、もしくは24mg/m² ~ 26mg/m²、またはおよそこれらの範囲の用量でフルダラビンを投与する。いくつかの場合には、対象に25mg/m²のフルダラビンを投与する。いくつかの態様では、フルダラビンは、単回用量で投与され得るか、または毎日、隔日もしくは3日ごとに投与されるような複数回用量で投与され得る。いくつかの態様では、フルダラビンは、1 ~ 5日間、例えば3 ~ 5日間などにわたって毎日投与される。

30

【0312】

いくつかの態様では、リンパ球枯渇剤は、シクロホスファミドとフルダラビンとの組み合わせなどの剤の組み合わせを含む。したがって、剤の組み合わせは、上記のような任意の用量または投与スケジュールのシクロホスファミド、および上記のような任意の用量または投与スケジュールのフルダラビンを含み得る。例えば、いくつかの局面では、対象は、最初の投与またはその後の投与の前に60mg/kg (~ 2g/m²) のシクロホスファミドおよび3 ~ 5回用量の25mg/m²のフルダラビンを投与される。

40

【0313】

細胞の投与に続いて、いくつかの態様における操作された細胞集団の生物学的活性は、例えば多くの公知の方法のいずれかによって測定される。評価するパラメータには、インビオで、例えばイメージングによって、またはエクスピオで、例えばELISAもしくはフローサイトメトリーによって、操作されたもしくは天然のT細胞または他の免疫細胞の抗原への特異的結合が含まれる。特定の態様では、操作された細胞が標的細胞を破壊する能力は、例えばKochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32 (7) :689-702 (2009)、およびHerman et al., J. Immunological Methods, 285 (1) :25-40 (2004)に記載されている細胞毒性アッセイなどの、当技術分野で公知の任意の適切な方法を用いて測定することができる。特定の態様では、細胞の生物学的活性は、CD107a、IFN、IL-2、およびTNFなどの1つまたは複数のサイトカインの発現および/または分泌を検定することによって測定され

50

る。いくつかの局面では、生物学的活性は、腫瘍量または負荷の減少などの臨床転帰を評価することによって測定される。

【0314】

特定の態様では、操作された細胞は、それらの治療的または予防的有効性が増大するよう、様々な方法でさらに改変される。例えば、集団によって発現される操作されたCARまたはTCRは、直接またはリンカーを介して間接的に標的部位に結合することができる。標的部位に化合物、例えばCARまたはTCRを結合することの実施は当技術分野において公知である。例えばWadwa et al., J.Drug Targeting 3:1 11 (1995)、および米国特許第5,087,616号参照。

【0315】

A. 投薬

いくつかの態様における薬学的組成物は、治療上有効な量または予防上有効な量などの、疾患または状態を治療または予防するために有効な量の細胞を含む。いくつかの態様では、組成物は、疾患または状態の負担を軽減するのに有効な量の細胞を含む。

【0316】

養子細胞療法に関連して、所与の「用量」の投与は、単一の組成物としての、および/または単一の中止されない投与、例えば単回注射もしくは持続注入としての所与の量または数の細胞の投与を包含し、また、3日以下の指定される期間にわたって複数の個々の組成物または注入で提供される分割用量としての所与の量または数の細胞の投与も包含する。したがって、いくつかの状況では、用量は、ある1つの時点で与えられるかまたは開始される、指定される数の細胞の単回投与または連続投与である。しかしながら、いくつかの状況では、用量は、3日間もしくは2日間1日1回などの3日以下の期間にわたる複数回の注射もしくは注入で、または1日の期間にわたる複数回の注入によって投与される。

【0317】

したがって、いくつかの局面では、用量の細胞は単一の薬学的組成物で投与される。いくつかの態様では、用量の細胞は、第一の用量の細胞を集合的に含む複数の組成物で投与される。

【0318】

「分割用量」という用語は、それが1日を超えて投与されるように分割されている用量を指す。この種の投与は本発明の方法に包含され、単回投与であると見なされる。

【0319】

したがって、いくつかの局面では、用量は分割用量として投与されてもよい。例えば、いくつかの態様では、用量は、2日間または3日間にわたって対象に投与され得る。分割投与のための例示的な方法は、1日目に用量の25%を投与し、2日目に用量の残りの75%を投与することを含む。他の態様では、1日目に最初の用量の33%を投与し、2日目に残りの67%を投与し得る。いくつかの局面では、1日目に用量の10%を投与し、2日目に用量の30%を投与し、3日目に用量の60%を投与する。いくつかの態様では、分割用量は3日間を超えない。

【0320】

いくつかの態様では、用量の細胞は、それぞれが用量の一部の細胞を含む、第一および第二、任意でそれ以上などの、複数の組成物または溶液の投与によって投与され得る。いくつかの局面では、それぞれ異なる集団および/またはサブタイプの細胞を含有する複数の組成物は、別々にまたは独立して、任意で一定期間内に投与される。例えば、細胞の集団またはサブタイプは、それぞれCD8⁺およびCD4⁺T細胞、ならびに/またはそれぞれCD8⁺および/またはCD4⁺に富む集団、例えばそれぞれ個別に組換え受容体を発現するように遺伝子操作された細胞を含むCD4⁺および/またはCD8⁺T細胞を含み得る。いくつかの態様では、用量の投与は、ある用量のCD8⁺T細胞またはある用量のCD4⁺T細胞を含有する第一の組成物の投与、ならびに他の用量のCD4⁺T細胞およびCD8⁺T細胞を含有する第二の組成物の投与を含む。

【0321】

10

20

30

40

50

いくつかの態様では、組成物または用量の投与、例えば複数の細胞組成物の投与は、細胞組成物を別々に投与することを含む。いくつかの局面では、別々の投与は、同時にまたは任意の順序で連続的に行われる。いくつかの態様では、用量は第一の組成物および第二の組成物を含み、第一の組成物および第二の組成物は0~12時間の間隔、0~6時間の間隔または0~2時間の間隔で投与される。いくつかの態様では、第一の組成物の投与開始および第二の組成物の投与開始は、2時間以内、1時間以内、または30分以内、15分以内、10分以内または5分以内の間隔で行われる。いくつかの態様では、第一の組成物の投与の開始および/または完了ならびに第二の組成物の投与の完了および/または開始は、2時間以内、1時間以内、または30分以内、15分以内、10分以内または5分以内の間隔で行われる。

【0322】

いくつかの組成物では、第一の組成物、例えば用量の第一の組成物はCD4+T細胞を含む。いくつかの組成物では、第一の組成物、例えば用量の第一の組成物はCD8+T細胞を含む。いくつかの態様では、第一の組成物は第二の組成物の前に投与される。

【0323】

いくつかの態様では、細胞の用量または組成物は、組換え受容体を発現するCD4+細胞対組換え受容体を発現するCD8+細胞、および/またはCD4+細胞対CD8+細胞の定義された比率または標的比率を含み、この比率は、任意で約1:1であるか、または約1:3~約3:1、例えば約1:1である。いくつかの局面では、異なる細胞集団の標的または所望の比率（例えばCD4+ : CD8+ 比またはCAR+CD4+ : CAR+CD8+ 比、例えば1:1）を有する組成物または用量の投与は、一方の集団を含む細胞組成物の投与、次いで他方の集団を含む別の細胞組成物の投与を含み、ここで、投与は標的比率もしくは所望の比率またはそれに近い比率においてである。

【0324】

いくつかの態様では、細胞の1つまたは複数の連続するまたはその後の用量を対象に投与することができる。いくつかの態様では、細胞の連続するまたはその後の用量は、細胞の初回用量の投与開始の7日、14日、21日、28日または35日後より後にまたはおよそそれより後に投与される。細胞の連続するまたはその後の用量は、最初の用量より多くても、ほぼ同じでも、またはより少なくてよい。いくつかの態様では、細胞の初回および/または2回目の用量の投与などのT細胞療法の投与を繰り返すことができる。

【0325】

いくつかの態様では、細胞は用量で、提供される方法に従って対象に投与される。いくつかの態様では、用量のサイズまたはタイミングは、対象における特定の疾患または状態の関数として決定される。特定の疾患についての用量のサイズまたはタイミングを経験的に決定することは、当業者のレベル範囲内である。投与量は、疾患もしくは障害および/または患者および/または他の治療に特有の特性に依存して異なり得る。

【0326】

特定の態様では、細胞、または細胞のサブタイプの個々の集団は、約10万~約1000億個の細胞の範囲で、および/または対象の体重1キログラム当たりその量の細胞で、例えば10万~約500億個の細胞（例えば約5百万個の細胞、約2500万個の細胞、約5億個の細胞、約10億個の細胞、約50億個の細胞、約200億個の細胞、約300億個の細胞、約400億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲）、100万~約500億個の細胞（例えば約500万個の細胞、約2500万個の細胞、約5億個の細胞、約10億個の細胞、約50億個の細胞、約200億個の細胞、約300億個の細胞、約400億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲）、例えば約1000万~約1000億個の細胞（例えば約2000万個の細胞、約3000万個の細胞、約4000万個の細胞、約6000万個の細胞、約7000万個の細胞、約8000万個の細胞、約9000万個の細胞、約100億個の細胞、約250億個の細胞、約500億個の細胞、約750億個の細胞、約900億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲）、およびいくつかの場合には、約1億個の細胞~約500億個の細胞（例えば約1億2000万個の細胞、約2億5000万個の細胞、約3億5000万個の細胞、約4億5000万個の細胞、約6億5000万個の細胞、約8億個の細胞、約9億個の細胞、約30億個の細胞、約300億個

10

20

30

40

50

の細胞、約450億個の細胞)、またはこれらの範囲の間の任意の値および/または対象の体重1キログラム当たりその量の細胞で、対象に投与される。投与量は、疾患もしくは障害および/または患者および/または他の治療に特有の特性に依存して異なり得る。いくつかの態様では、そのような値は組換え受容体発現細胞の数を指し、他の態様では、それらは投与されるT細胞またはPBMCまたは全細胞の数を指す。

【0327】

いくつかの態様では、例えば対象がヒトである場合、用量は、約 5×10^8 未満の全組換え受容体(例えばCAR)発現細胞、T細胞、または末梢血単核細胞(PBMC)、例えば約 1×10^6 ~ 5×10^8 のそのような細胞、例えば 2×10^6 、 5×10^6 、 1×10^7 、 5×10^7 、 1×10^8 、もしくは 5×10^8 のそのような全細胞の範囲、または前記値のいずれか2つの間の範囲の細胞を含む。

10

【0328】

いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 1×10^5 ~ 5×10^8 もしくは約 1×10^5 ~ 5×10^8 の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、または 5×10^5 ~ 1×10^7 もしくは約 5×10^5 ~ 1×10^7 の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)、または 1×10^6 ~ 1×10^7 もしくは約 1×10^6 ~ 1×10^7 の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞(PBMC)の細胞数を含む用量の投与を含む。いくつかの態様では、細胞療法は、少なくともまたは少なくとも約 1×10^5 の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、または総末梢血単核細胞(PBMC)、例えば少なくともまたは少なくとも 1×10^6 、少なくともまたは少なくとも約 1×10^7 、少なくともまたは少なくとも約 1×10^8 のそのような細胞などの細胞数を含む用量の細胞の投与を含む。いくつかの態様では、この数はCD3+またはCD8+細胞の総数を基準とし、いくつかの場合には組換え受容体発現(例えばCAR+)細胞の総数も基準としている。いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 1×10^5 ~ 5×10^8 もしくは約 1×10^5 ~ 5×10^8 のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞、または 5×10^5 ~ 1×10^7 もしくは約 5×10^5 ~ 1×10^7 のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞、または 1×10^6 ~ 1×10^7 もしくは約 1×10^6 ~ 1×10^7 のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞の細胞数を含む用量の投与を含む。いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 1×10^5 ~ 5×10^8 もしくは約 1×10^5 ~ 5×10^8 の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞、 5×10^5 ~ 1×10^7 もしくは約 5×10^5 ~ 1×10^7 の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞、または 1×10^6 ~ 1×10^7 もしくは約 1×10^6 ~ 1×10^7 の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞の細胞数を含む用量の投与を含む。

20

【0329】

いくつかの態様では、用量のT細胞は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、またはCD4+およびCD8+T細胞を含む。

【0330】

いくつかの態様では、例えば対象がヒトである場合、CD4+およびCD8+T細胞を含む用量を含む、用量のCD8+T細胞は、約 1×10^6 ~ 5×10^8 の総組換え受容体(例えばCAR)発現CD8+細胞、例えば約 5×10^6 ~ 1×10^8 の範囲のそのような細胞、例えば 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、もしくは 5×10^8 の総数のそのような細胞、または前記の値のいずれか2つの間の範囲のそのような細胞を含む。いくつかの態様では、患者は複数用量を投与され、それぞれの用量または総用量は、前記値のいずれかの範囲内であり得る。いくつかの態様では、細胞の用量は、それぞれ両端の値を含む、 1×10^7 ~ 0.75×10^8 または約 1×10^7 ~ 0.75×10^8 の総組換え受容体発現CD8+T細胞、 1×10^7 ~ 2.5×10^7 または約 1×10^7 ~ 2.5×10^7 の総組換え受容体発現CD8+T細胞、 1×10^7 ~ 0.75×10^8 または約 1×10^7 ~ 0.75×10^8 の総組換え受容体発現CD8+T細胞の投与を含む。いくつかの態様では、細胞の用量は、 1×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、もしくは 5×10^8 、またはおよそれらの数の総組換え受容体発現CD8+T細胞の投与を含む。

40

【0331】

50

いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ の組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC)、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ の組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC)、または $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ の組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC)の細胞数を含む用量の投与を含む。いくつかの態様では、細胞療法は、少なくともまたは少なくとも約 1×10^5 の組換え受容体発現細胞、総T細胞、または総末梢血単核細胞 (PBMC)、例えば少なくともまたは少なくとも約 1×10^6 、少なくともまたは少なくとも約 1×10^7 、少なくともまたは少なくとも約 1×10^8 のそのような細胞の細胞数を含む用量の細胞の投与を含む。いくつかの態様では、この数はCD3+またはCD8+細胞の総数を基準とし、いくつかの場合には組換え受容体発現 (例えばCAR+) 細胞の総数も基準としている。いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞、または $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ のCD3+もしくはCD8+全T細胞またはCD3+もしくはCD8+組換え受容体発現細胞の細胞数を含む用量の投与を含む。いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞、または $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ の総CD3+/CAR+もしくはCD8+/CAR+細胞の細胞数を含む用量の投与を含む。
10

【0332】

特定の態様では、細胞、または細胞のサブタイプの個々の集団は、約10万～約1000億個の細胞の範囲で、および/または対象の体重1キログラム当たりその量の細胞で、例えば10万～約500億個の細胞 (例えば約5百万個の細胞、約2500万個の細胞、約5億個の細胞、約10億個の細胞、約50億個の細胞、約200億個の細胞、約300億個の細胞、約400億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲)、100万～約500億個の細胞 (例えば約500万個の細胞、約2500万個の細胞、約5億個の細胞、約10億個の細胞、約50億個の細胞、約200億個の細胞、約300億個の細胞、約400億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲)、例えば約1000万～約1000億個の細胞 (例えば約2000万個の細胞、約3000万個の細胞、約4000万個の細胞、約6000万個の細胞、約7000万個の細胞、約8000万個の細胞、約9000万個の細胞、約100億個の細胞、約250億個の細胞、約500億個の細胞、約750億個の細胞、約900億個の細胞、もしくは前記値のいずれか2つによって定義される範囲)、およびいくつかの場合には、約1億個の細胞～約500億個の細胞 (例えば約1億2000万個の細胞、約2億5000万個の細胞、約3億5000万個の細胞、約4億5000万個の細胞、約6億5000万個の細胞、約8億個の細胞、約9億個の細胞、約30億個の細胞、約300億個の細胞、約450億個の細胞)、またはこれらの範囲の間の任意の値および/または対象の体重1キログラム当たりその量の細胞で、対象に投与される。投与量は、疾患もしくは障害および/または患者および/または他の治療に特有の特性に依存して異なり得る。いくつかの態様では、そのような値は組換え受容体発現細胞の数を指し、他の態様では、それらは投与されるT細胞またはPBMCまたは全細胞の数を指す。
20

【0333】

いくつかの態様では、細胞療法は、対象の体重1kg当たり少なくとももしくは少なくともおよそ以下の値または以下の値もしくはおよそ以下の値: 0.1×10^6 細胞/kg、 0.2×10^6 細胞/kg、 0.3×10^6 細胞/kg、 0.4×10^6 細胞/kg、 0.5×10^6 細胞/kg、 1×10^6 細胞/kg、 2.0×10^6 細胞/kg、 3×10^6 細胞/kgまたは 5×10^6 細胞/kgである細胞数を含む用量の投与を含む。
30

【0334】

いくつかの態様では、細胞療法は、それぞれ両端の値を含む、対象の体重1kg当たり 0.1×10^6 細胞/kg～ 1.0×10^7 細胞/kgもしくは約 0.1×10^6 細胞/kg～ 1.0×10^7 細胞/kg、 0.5×10^6 細胞/kg～ 5×10^6 細胞/kgもしくは約 0.5×10^6 細胞/kg～ 5×10^6 細胞/kg、 0.5×10^6 細胞/kg
40

10

20

30

40

50

~ 3×10^6 細胞/kg もしくは約 0.5×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg、 0.5×10^6 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kg もしくは約 0.5×10^6 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kg、 0.5×10^6 細胞/kg ~ 1×10^6 細胞/kg もしくは約 0.5×10^6 細胞/kg ~ 1×10^6 細胞/kg、対象の体重1kg当たり 1.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg もしくは約 1.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg、 1.0×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg もしくは約 1.0×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg、 1.0×10^6 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kg もしくは約 1.0×10^6 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kg、対象の体重1kg当たり 2.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg もしくは約 2.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg、 2.0×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg もしくは約 2.0×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg、または対象の体重1kg当たり 3.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg もしくは約 3.0×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg である細胞数を含む用量の投与を含む。

10

【0335】

いくつかの態様では、細胞の用量は、 2×10^5 細胞/kg もしくは約 2×10^5 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kg もしくは約 2×10^6 細胞/kg、例えば 4×10^5 細胞/kg もしくは約 4×10^5 細胞/kg ~ 1×10^6 細胞/kg もしくは約 1×10^6 細胞/kg、または 6×10^5 細胞/kg もしくは約 6×10^5 細胞/kg ~ 8×10^5 細胞/kg もしくは約 8×10^5 細胞/kg を含む。いくつかの態様では、細胞の用量は、対象の体重1キログラム当たり(細胞/kg) 2×10^5 個以下の細胞(例えばCAR発現細胞などの抗原発現細胞)、例えば 3×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 3×10^5 細胞/kg 以下、 4×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 4×10^5 細胞/kg 以下、 5×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 5×10^5 細胞/kg 以下、 6×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 6×10^5 細胞/kg 以下、 7×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 7×10^5 細胞/kg 以下、 8×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 8×10^5 細胞/kg 以下、 9×10^5 細胞/kg 以下もしくは約 9×10^5 細胞/kg 以下、 1×10^6 細胞/kg 以下もしくは約 1×10^6 細胞/kg 以下、または 2×10^6 細胞/kg 以下もしくは約 2×10^6 細胞/kg 以下を含む。いくつかの態様では、細胞の用量は、対象の体重1キログラム当たり(細胞/kg) 2×10^5 個の細胞(例えばCAR発現細胞などの抗原発現細胞)もしくは約 2×10^5 個の細胞、または少なくとももしくは少なくとも約 2×10^5 個の細胞、例えば以下の値もしくはおよそ以下の値または少なくとももしくは少なくともおよそ以下の値: 3×10^5 細胞/kg、 4×10^5 細胞/kg、 5×10^5 細胞/kg、 6×10^5 細胞/kg、 7×10^5 細胞/kg、 8×10^5 細胞/kg、 9×10^5 細胞/kg、 1×10^6 細胞/kg、または 2×10^6 細胞/kg を含む。

20

【0336】

いくつかの態様では、細胞は所望の投与量で投与され、これは、いくつかの局面では所望の用量もしくは数の細胞もしくは細胞型(1つもしくは複数)および/または所望の比率の細胞型を含む。したがって、いくつかの態様では細胞の投与量は、細胞の総数(または体重1kg当たりの数)および個々の集団またはサブタイプの所望の比率、例えばCD4+対CD8+比に基づく。いくつかの態様では、細胞の投与量は、個々の集団または個々の細胞型における細胞の所望の総数(または体重1kg当たりの数)に基づく。いくつかの態様では、投与量は、個々の集団における全細胞の所望の数、所望の比率、および細胞の所望の総数などの特徴の組み合わせに基づく。

30

【0337】

いくつかの態様では、CD8+およびCD4+T細胞などの細胞の集団またはサブタイプは、T細胞の所望の用量などの全細胞の所望の用量の許容差でまたは許容差内で投与される。いくつかの局面では、所望の用量は、細胞の所望の数または細胞が投与される対象の単位体重当たりの細胞の所望の数、例えば細胞/kgである。いくつかの局面では、所望の用量は、細胞の最小数もしくは最小数より上、または単位体重当たりの細胞の最小数もしくは最小数より上である。いくつかの局面では、所望の用量で投与される全細胞の中で、個々の集団またはサブタイプは、所望の産生比(CD4+対CD8+比など)またはそれに近い比率で、例えばそのような比のある特定の許容差内または許容誤差内で存在する。

40

【0338】

いくつかの態様では、細胞は、所望の用量のCD4+細胞および/または所望の用量のCD8+細胞などの、1つまたは複数の個々の集団またはサブタイプの細胞の所望の用量の許容差でまたは許容範囲内で投与される。いくつかの局面では、所望の用量は、サブタイプま

50

たは集団の細胞の所望の数、または細胞が投与される対象の単位体重当たりのそのような細胞の所望の数、例えば細胞/kgである。いくつかの局面では、所望の用量は、集団もしくはサブタイプの細胞の最小数もしくは最小数より上、または単位体重当たりの集団もしくはサブタイプの細胞の最小数もしくは最小数より上である。

【0339】

したがって、いくつかの態様では、投与量は、全細胞の所望の固定用量および所望の比率に基づき、ならびに/または個々のサブタイプもしくは亜集団の1つもしくは複数、例えば各々の、所望の固定用量に基づく。したがって、いくつかの態様では、投与量は、T細胞の所望の固定用量もしくは最小用量およびCD4⁺対CD8⁺細胞の所望の比率に基づき、ならびに/またはCD4⁺および/またはCD8⁺細胞の所望の固定用量もしくは最小用量に基づく。
10

【0340】

いくつかの態様では、細胞は、CD4⁺およびCD8⁺細胞またはサブタイプなどの複数の細胞集団またはサブタイプの所望の産生比の許容範囲でまたは許容範囲内で投与される。いくつかの局面では、所望の比率は特定の比率であり得るかまたは比率の範囲であり得、例えばいくつかの態様では、所望の比率（例えばCD4⁺対CD8⁺細胞の比率）は、5:1～5:1もしくは約5:1～約5:1（もしくは約1:5より大きく約5:1より小さい）、または1:3～3:1もしくは約1:3～約3:1（もしくは約1:3より大きく約3:1より小さい）、例えば2:1～1:5もしくは約2:1～約1:5（もしくは約1:5より大きく約2:1より小さい、例えば5:1、4.5:1、4:1、3.5:1、3:1、2.5:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1:1、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:2.5、1:3、1:3.5、1:4、1:4.5、もしくは1:5、またはおよそこれらの比率である。いくつかの局面では、許容差は、所望の比率の約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%以内であり、これらの範囲の間の任意の値を含む。
20

【0341】

特定の態様では、細胞の数および/または濃度は、組換え受容体（例えばCAR）発現細胞の数を指す。他の態様では、細胞の数および/または濃度は、投与されるすべての細胞、T細胞、または末梢血単核細胞（PBMC）の数または濃度を指す。

【0342】

いくつかの局面では、投与量のサイズは、以前の治療、例えば化学療法に対する対象の応答、対象における疾患負荷、例えば腫瘍の量、体積、大きさ、または転移の程度、範囲もしくは種類、病期、および/または毒性転帰、例えばCRS、マクロファージ活性化症候群、腫瘍溶解症候群、神経毒性を発症する対象の可能性もしくは発生率、ならびに/または投与される細胞および/もしくは組換え受容体に対する宿主の免疫応答などの、1つまたは複数の基準に基づいて決定される。
30

【0343】

B. 破壊および/または治療

組換え受容体発現細胞、例えばCAR+T細胞などの遺伝子操作された細胞を用量で投与することに関連して、細胞が存在するもしくは存在する可能性がある区域、例えば病変を破壊するため、および/または病変もしくはその一部の物理的もしくは機械的操縦、放射線もしくは免疫調節剤の投与の1つもしくは複数を含む治療を行うための任意の方法、例えばB章に記載されている方法を使用することができる。いくつかの態様では、破壊および/または治療は、遺伝子操作された細胞を投与した後に行われる。いくつかの態様では、破壊および/または治療は、遺伝子操作された細胞（例えばCAR-T細胞）の投与の1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、2年後もしくはそれ以上より後にまたはおよそこれらの期間より後に行われる。
40

【0344】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、応答転帰を改善するために、対象が

遺伝子操作された細胞に対して部分奏効 (PR) を示した後および/または対象が一定期間内に、例えば14~28日以内に遺伝子操作された細胞に応答しなかった後の時点で行われる。特定の態様では、治療および/または破壊は、対象が部分奏効を示した後の時点で行われる。特定の態様では、破壊は、対象がPRを示した1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、2年後もしくはそれ以上より後にまたはおよそこれらの期間より後に行われる。特定の態様では、破壊は、対象がPRを示した1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年、2年後もしくはそれ以上より後にまたはおよそこれらの期間より後に行われる。いくつかの態様では、提供される方法によって治療に対する完全奏効 (CR) が観察される。いくつかの態様では、対象は、以前の治療法または組換え受容体発現細胞、例えばCAR+T細胞などの遺伝子操作された細胞に対してCRなどの寛解をこれまでに達成したことがない。

10

【0345】

いくつかの態様では、治療および/または破壊の時点でまたはその直前に、対象は、遺伝子操作された細胞の投与に応答した寛解の後に再発した。いくつかの態様では、再発は、組換え受容体発現細胞、例えばCAR+T細胞などの遺伝子操作された細胞の投与に対する完全奏効 (CR) またはPR後の時点 (例えば1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年またはそれ以上以内) で起こる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、再発後または再発が検出もしくは観察された後12時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日もしくは1週間以内またはおよそこれらの期間以内に行われる。特定の態様では、治療および/または破壊は、対象が再発を経験していると決定された、または再発を経験している疑いがある後の12時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日または1週間以内またはおよそこれらの期間以内に行われる。

20

【0346】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、対象由来の血液中で検出可能な操作された細胞の数が、操作された細胞の投与後の先行する時点での対象におけるものと比較して減少している時点で行われる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、血液中で検出可能なT細胞療法の細胞数が、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、もしくは100倍未満、もしくは約1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、もしくは100倍未満、T細胞療法の投与開始後に対象の血液中で検出可能なT細胞療法の細胞のピークもしくは最大数より少ない時点；ならびに/またはT細胞療法の細胞のピークもしくは最大レベルが対象の血液中で検出可能であった後、対象からの血液中で検出可能なT細胞療法の細胞数が対象の血液中の全末梢血単核細胞 (PBMC) の10%未満、5%未満、1%未満もしくは0.1%未満である時点で行われる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、血液中で検出可能なT細胞療法の細胞数が、T細胞療法の投与開始後に対象の血液中で検出可能なT細胞療法の細胞のピークまたは最大数よりも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、もしくは99.9%少ない、または約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、もしくは99.9%少ない時点で行われる。

30

【0347】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、(i) 1マイクロリットルあたり10個未満もしくは約10個未満の操作された細胞、(ii) 総数の20%、30%、40%、もしくは50%未満もしくは約20%、30%、40%、もしくは50%未満の末梢血単核細胞 (PBMC)、(iii) 1×10^5 個未満もしくは約 1×10^5 個未満の操作された細胞、または(iv) DNA 1マイクログラムあたり5,000コピー未満もしくは約5,000コピー未満の組換え受容体コードDNAが存在する時点で行われる。

40

【0348】

いくつかの態様では、破壊および/または治療は、单一の治療、手順、または操作を含む治療レジメンの一部として行われる。特定の態様では、破壊および/または治療は、複数の治療、手順、または操作を含む治療レジメンの一部として行われる。特定の態様では

50

、治療および/または破壊は、約1時間、約6時間、約12時間、約24時間、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、約10日、約11日、約12日、約13日、約14日、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、約12週間、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の治療期間にわたる複数の治療を含む治療レジメンで行われる。いくつかの態様では、治療および/または破壊は、約1分～約1時間、1時間～12時間、約12時間～約24時間、約1日～約2日、約1日～約5日、約1日～約7日、約1週間～約4週間、約1ヶ月～約2ヶ月の長さの治療期間にわたる複数の治療で行われる。いくつかの態様では、複数の治療は、治療期間にわたって毎時間、毎日、隔日、2日ごと、3日ごと、4日ごと、5日ごと、6日ごと、週1回、週2回、週3回、週4回、週5回、週6回、週7回、週8回、週9回、週10回、週11回、週12回、週13回、週14回、月1回、月2回、月3回、月4回、月5回、月6回、月7回、月8回、月9回、月10回、月11回、月12回、月13回、月14回、2ヶ月に1回、または3ヶ月に1回行われる。

【0349】

特定の態様では、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）は、治療サイクル中に複数の治療（または処置もしくは操作）を含む治療レジメンによって治療および/または破壊される。治療サイクルは、定期的に繰り返される一連の治療である。いくつかの態様では、治療サイクルは、数日間の治療とそれに続く数日間の休止（すなわち休薬期間）を含み得る。例えば、28日間の治療サイクルにおいて、治療を3週間毎日実施し、続いて1週間治療を休止してもよく、または最初の3週間は週に5回治療を実施し、続いて1週間治療を休止してもよい。特定の態様では、治療は、1つまたは複数の治療サイクルにわたって病変を治療および/または破壊するために行われる。治療サイクルは、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも14、少なくとも21、少なくとも28、少なくとも48、または少なくとも96日またはそれ以上であり得る。一態様では、治療サイクルは28日である。様々な態様において、治療サイクルは、対象の状態および必要性に基づき医療専門家によって決定される。いくつかの態様では、治療は、28日の治療サイクルのうち少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも7日、少なくとも8日、少なくとも9日、少なくとも10日、少なくとも11日、少なくとも12日、少なくとも13日、少なくとも14日、少なくとも21日、または28日すべてで行われる。

【0350】

いくつかの態様では、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）は、機械的治療および/または破壊、例えば生検によって治療および/または破壊される。特定の態様では、病変は、単一の治療、手順、または操作によって機械的に治療および/または破壊される。特定の態様では、機械的治療および/または破壊は、複数の治療、処置、または操作、例えば生検を含む。いくつかの態様では、対象において複数の病変が治療および/または破壊される。

【0351】

特定の態様では、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）は、温熱療法、例えば寒冷療法または温熱治療で治療および/または破壊される。温熱療法は、病変の有効な治療および/または破壊であることが当業者に公知の任意のスケジュール、用量、または方法に従って投与され得る。いくつかの態様では、病変は温熱療法の単一治療によって治療および/または破壊される。特定の態様では、病変は温熱療法の複数の治療によって治療および/または破壊される。特定の態様では、温熱療法は凍結融解壊死療法であり得る。いくつかの態様では、温熱療法は温熱治療であり得る。いくつかの態様では、温熱療法は、腫瘍の温度を温熱治療におけるよりも高温に上昇させる療法である。

【0352】

いくつかの態様では、病変は、照射および/または放射線療法によって治療および/また

10

20

30

40

50

は破壊される。線量は、グレイ (Gy、100cGy = 1Gyの場合はcGyとしても表される) として知られる国際単位に基づいており、1回の治療期間中に送達される線量はフラクションとして知られる。例えば、表在放射線療法 (SRT) の典型的な照射スケジュールは、合計15フラクションについて300cGyの線量で送達される合計4,500cGy (45Gy) の線量であり得る。放射線治療は数週間にわたって送達され得、特定の日に、例えば月曜日から金曜日までフラクションが照射される。週に2~3回のフラクション (すなわち月曜日、水曜日、金曜日のスケジュール) を含む代替照射スケジュールも臨床診療で使用されている。患者への線量は、熟達した技術者、例えば放射線物理士の助けを借りることを含めて、熟達した臨床医によって決定され、病変の大きさ、ならびに対象の年齢および健康状態に基づく。

【0353】

10

特定の態様では、区域 (例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部) は、放射線による1つまたは複数の治療によって治療および/または破壊される。特定の態様では、病変は複数の治療または放射線の照射で治療および/または破壊され、総線量は約5Gy、約10Gy、約15Gy、約20Gy、約25Gy、約30Gy、約35Gy、約40Gy、約41Gy、約42Gy、約43Gy、約44Gy、約45Gy、約46Gy、約47Gy、約48Gy、49Gy、約50Gy、約51Gy、約52Gy、約53Gy、約54Gy、約55Gy、約56Gy、約57Gy、約58Gy、約59Gy、約60Gy、約61Gy、約62Gy、約63Gy、約64Gy、約65Gy、約70Gy、約80Gy、約90Gy、または約100Gyである。いくつかの態様では、総線量は、約0.01Gy ~ 約1Gy、約1Gy ~ 約30Gy、約1Gy ~ 約15Gy、約15Gy ~ 約30Gy、約30Gy ~ 約90Gy、約30Gy ~ 約45Gy、約40Gy ~ 約70Gy、または約45Gy ~ 約60Gyである。

20

【0354】

いくつかの態様では、病変は、放射線による2回またはそれ以上の分割治療によって治療および/または破壊される。特定の態様では、分割線量は、約100cGy、約200cGy、約300cGy、約400cGy、約500cGy、約600cGy、約700cGy、約800cGy、約900cGy、約1Gy、約2Gy、約3Gy、約4Gy、または約5Gyである。特定の態様では、分割線量は、約10cGy ~ 約100cGy、約100cGy ~ 約500cGy、約500cGy ~ 約1Gy、または約1Gy ~ 約5Gyである。

30

【0355】

いくつかの態様では、病変は1回の放射線治療によって治療および/または破壊される。特定の態様では、単回線量は、約100cGy、約200cGy、約300cGy、約400cGy、約500cGy、約600cGy、約700cGy、約800cGy、約900cGy、約1Gy、約2Gy、約3Gy、約4Gy、または約5Gyである。特定の態様では、単回線量は、約10cGy ~ 約100cGy、約100cGy ~ 約500cGy、約500cGy ~ 約1Gy、または約1Gy ~ 約5Gyである。

30

【0356】

特定の態様では、病変は、体外照射療法 (EBT) で治療および/または破壊される。病変を治療および/または破壊するために、EBTは、限定されることなく、過剰増殖性障害の治療または改善に有効であることが当業者に公知の任意のスケジュール、用量、または方法に従って実施され得る。いくつかの態様では、病変は、過剰増殖性障害の治療または改善に有効であると当業者によって理解されている線量より低い線量でEBTを実施することによって治療および/または破壊される。通常、体外照射療法は、対象の体内の規定の体積に高エネルギー放射線を照射し、それによってその体積内で細胞死を引き起こすことを含む。いくつかの態様では、照射される体積は、治療および/または破壊されるべき病変を含み、好ましくはできるだけ少ない健常および/または非病変組織を含む。特定の態様では、照射される体積は、病変の大部分または全部を含む。いくつかの態様では、体外照射療法に有用な投与方法および装置および組成物は、米国特許第6,449,336号、同第6,398,710号、同第6,393,096号、同第6,335,961号、同第6,307,914号、同第6,256,591号、同第6,245,005号、同第6,038,283号、同第6,001,054号、同第5,802,136号、同第5,596,619号および同第5,528,652号に見出すことができる。

40

【0357】

いくつかの態様では、病変は近接照射療法で治療および/または破壊される。特定の態様では、近接照射療法は、病変を治療および/または破壊するために、過剰増殖性傷害の

50

治療または改善に有效であることが当業者に公知の任意のスケジュール、線量、または方法に従って実施することができる。特定の態様では、近接照射療法は、過剰増殖性障害の治療または改善に有效であるものより少ないことが当業者に公知のスケジュール、線量、または方法に従って実施され得る。通常、近接照射療法は、腫瘍が放射線源に最大限に曝露されるように、腫瘍自体の内部などの、癌を治療される対象の体内に放射線源を挿入すること、および健常組織の曝露を最小限に抑えることを含む。近接照射療法で投与することができる代表的な放射性同位元素としては、リン32、コバルト60、パラジウム103、ルテニウム106、ヨウ素125、セシウム137、インジウム192、キセノン133、ラジウム226、カリホルニウム252、または金198が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。近接照射療法に有用な投与方法および装置および組成物は、Mazeron et al, Sem.Rad.Onc. 12:9 10 5-108 (2002)、Kovacs J.Contemp.Brachytherapy. 6 (4) :404-416 (2015)、ならびに米国特許第6,319,189号、同第6,179,766号、同第6,168,777号、同第6,149,889号、および同第5,611,767号に記載されている。

【0358】

いくつかの態様では、1つまたは複数の治療、例えば治療薬などの薬剤の投与が病変を治療および/または破壊するために行われる。特定の態様では、治療は、記載されているもののような薬剤、例えば免疫調節剤または化合物の一定用量を投与することを含む。特定の態様では、薬剤は、病変を治療および/または破壊するために1回投与される。特定の態様では、薬剤は、病変を治療および/または破壊するために複数回投与される。いくつかの態様では、薬剤は、約0.0001～約100mg/kg体重、例えば約0.0005～約50mg/kg体重、20 例えは約0.001～約10mg/kg体重、例えは約0.01～約1mg/kg体重の範囲の用量で投与される。特定の態様では、薬剤は、約0.001mg～約100mg、約0.05mg～約50mg、約0.01mg～約1mg、約1mg～約20mg、または約5mg～約15mgの用量で対象に投与される。いくつかの態様では、薬剤は全身投与される。特定の態様では、剤は病変に局所投与される。特定の態様では、薬剤は、経口的、局所的、舌下、静脈内、皮下、経腸的、非経口的に、吸入によって、および/または注射によって投与される。

【0359】

いくつかの態様では、薬剤は化学療法剤である。いくつかの態様では、化学療法剤は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている1つまたは複数の用量で投与され得る。特定の態様では、化学療法剤は、過剰増殖性障害の治療に有效であると認識されている当技術分野で使用されているものよりも低い用量で投与され得る。いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために単回用量の化学療法剤が投与される。特定の態様では、病変を治療および/または破壊するために複数回用量の化学療法剤が治療期間にわたって、例えは1または複数の治療サイクルにわたって対象に投与される。特定の態様では、化学療法剤の治療または投与の量は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている数である。いくつかの態様では、治療の量は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている数より少ない。

【0360】

特定の態様では、薬剤は免疫調節剤、例えはチェックポイント阻害剤である。特定の態様では、免疫調節剤は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている1つまたは複数の用量で投与され得る。特定の態様では、免疫調節剤は、過剰増殖性障害の治療に有效であると認識されている当技術分野で使用されているものよりも低い用量で投与され得る。特定の態様では、病変を治療および/または破壊するために単回用量の免疫調節剤が投与される。いくつかの態様では、病変を治療および/または破壊するために複数回用量の免疫調節剤が治療期間にわたって、例えは1または複数の治療サイクルにわたって対象に投与される。特定の態様では、免疫調節剤の治療または投与の量は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている数である。いくつかの態様では、治療の量は、過剰増殖性障害の治療に有效であると当業者によって認識されている数より少ない。

【0361】

10

20

30

40

50

特定の態様では、薬剤はレナリドミドまたはサリドマイド誘導体である。特定の態様では、薬剤はレナリドミドである。いくつかの態様では、レナリドミドまたはサリドマイド誘導体は、約1mg～約20mg、例えば約1mg～約10mg、約2.5mg～約7.5mg、約5mg～約15mg、例えば約5mg、10mg、15mgまたは20mgの投与量で投与される。いくつかの態様では、レナリドミドは、約10 μg/kg～5mg/kg、例えば約100 μg/kg～約2mg/kg、約200 μg/kg～約1mg/kg、約400 μg/kg～約600 μg/kg、例えば約500 μg/kgの用量で投与される。特定の態様では、レナリドミドの用量は10mgまたは約10mgである。特定の態様では、病変は、単回用量のレナリドミドを対象に投与することによって治療および/または破壊される。特定の態様では、病変は、複数回用量のレナリドミドを対象に投与することによって治療および/または破壊される。特定の態様では、複数回用量のレナリドミドは、1回または複数回の治療サイクルにわたって投与される。いくつかの態様では、治療サイクルは休薬期間を含む。特定の態様では、レナリドミドは、21日の治療サイクルにわたって、14日間1日1回投与される。特定の態様では、レナリドミドは、28日の治療サイクルにわたって、21日間1日1回投与される。

10

【0362】

いくつかの態様では、治療および/または破壊は、先のまたは以前の治療および/または破壊の後に1または複数の後続の治療および/または破壊を行うことなどによって、1回または複数回繰り返される。いくつかの態様では、後続または繰り返しの治療および/または破壊は、遺伝子操作された細胞が対象において拡大した後、または先行治療および/または破壊後ならびに後続治療および/または破壊の前に拡大したことが観察された後に行われる。いくつかの場合には、後続治療および/または破壊は、後続治療および/または破壊の時点またはその直前に対象が寛解期にある時点で行われる。いくつかの例では、後続の治療および/または破壊は、その時点でまたはその直前に、血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が減少しているかまたは検出不能である時点で行われる。いくつかの場合には、後続の治療および/または破壊は、後続治療および/または破壊の時点でまたはその直前に、対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、先行治療および/または破壊の開始後の先行する時点と比較して減少している時点で行われる。いくつかの場合には、後続の治療および/または破壊は、後続治療および/または破壊の時点でまたはその直前に、対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、先行治療および/または破壊の開始後に対象の血液中で検出可能なまたは検出された遺伝子操作された細胞のピークまたは最大数と比較して、および/または先行治療および/または破壊の開始後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍、またはそれ以上減少している時点で行われる。

20

【0363】

いくつかの態様では、方法は、任意で対象が先行する治療および/または破壊後の応答の後に再発した、および/または先行治療および/または破壊後に完全奏効を達成しなかつた後に、後続の治療および/または破壊を行うことを含む。いくつかの場合には、対象は、先行する治療および/または破壊の後に遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後、後続の治療および/または破壊の前に応答しなくなつたおよび/または再発した。いくつかの局面では、遺伝子操作された細胞は、先行する治療および/または破壊の後および後続の治療および/または破壊の前に、対象において拡大しているか、または拡大したことが観察されている。

30

【0364】

C. 細胞の拡大のモニタリング

いくつかの態様では、本発明の方法は、T細胞、例えばT細胞に基づく療法のために投与されるT細胞の曝露、持続性および増殖の評価を含む。いくつかの態様では、本明細書で提供される方法における細胞、例えば免疫療法、例えばT細胞療法のために投与される細胞の曝露、もしくは長期間の拡大および/もしくは持続性、ならびに/または細胞表現型もしくは細胞の機能的活性の変化は、インビトロまたはエクスピボでT細胞の特徴を評価す

40

50

ることによって測定できる。いくつかの態様では、そのようなアッセイは、本明細書で提供される細胞療法を投与する前または後に、免疫療法、例えばT細胞療法に使用されるT細胞の機能を決定または確認するために使用することができる。

【0365】

いくつかの態様では、T細胞の投与後ならびに治療の投与前、投与中および/または投与後に、対象における組換え受容体を発現する細胞（例えばT細胞に基づく療法のために投与されるCAR発現細胞）の存在および/または量を検出する。特定の態様では、T細胞の投与後ならびに破壊の前、破壊の間および/または破壊後に、対象における組換え受容体を発現する細胞の存在および/または量を検出する。いくつかの局面では、持続性をモニタリングするためなどの、細胞の存在および/または量は、DNA 1マイクログラムの当たりの、受容体、例えばCARをコードするDNAもしくはプラスミドのコピーとして、または例えば血液もしくは血清の試料1マイクロリットル当たりの、または試料1マイクロリットル当たりの末梢血単核細胞（PBMC）もしくは白血球もしくはT細胞の総数当たりの、受容体発現細胞、例えばCAR発現細胞の数として定量化される。いくつかの場合には、操作された細胞、例えば組換え受容体発現細胞の存在は、対象の器官または組織試料（例えば疾患部位、例えば腫瘍試料）などの他の生物学的試料において検出またはモニタリングすることができる。

【0366】

いくつかの局面では、対象の血液または血清または器官または組織試料（例えば疾患部位、例えば腫瘍試料）中の組換え受容体を発現する細胞（例えばT細胞に基づく療法のために投与されるCAR発現細胞）の量を評価するために、定量的PCR（qPCR）が使用される。いくつかの場合には、組換え受容体を発現する細胞の存在または量を評価する方法は、操作された細胞を投与された対象から末梢血（または他の生物学的試料）を採取すること、および末梢血または生物学的試料中の操作された細胞の数または比率を決定することを含み得る。細胞を選択および/または単離するためのアプローチは、キメラ抗原受容体（CAR）特異的抗体（例えばBrentjens et al., Sci. Transl. Med. 2013 Mar ; 5 (177) :177ra38）、プロテインL（Zheng et al., J. Transl. Med. 2012 Feb ; 10:29）、CARの特定の部位に直接導入され、それによりStrepタグの結合試薬を使用してCARを直接評価する、Strepタグ配列などのエピトープタグ（Liu et al. (2016) Nature Biotechnology, 34:430；国際特許出願公開第2015095895号）、およびCARポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体（国際特許出願公開第2014190273号参照）の使用を含み得る。外因性マーカー遺伝子は、いくつかの場合には、細胞の検出または選択を可能にするために、およびいくつかの場合にはまた、細胞自殺を促進するために、操作された細胞療法と関連して利用され得る。いくつかの場合には、切断型上皮成長因子受容体（EGFRt）は、形質導入細胞において関心対象の導入遺伝子（CARまたはTCR）と共に発現させることができる（例えば米国特許第8,802,374号参照）。EGFRtは、抗体セツキシマブ（Erbxitux（登録商標））または他の治療用抗EGFR抗体または結合分子によって認識されるエピトープを含み得、これは、EGFRt構築物およびキメラ抗原受容体（CAR）などの別の組換え受容体で操作された細胞を同定もしくは選択するために、ならびに/または受容体を発現する細胞を排除または分離するために使用することができる。米国特許第8,802,374号およびLiu et al., Nature Biotechnol. 2016 April ; 34 (4) :430-434参照。

【0367】

いくつかの態様では、これらの細胞は、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の4、14、15、27、もしくは28日後に、または少なくとも4、14、15、27、もしくは28日後に、対象において検出される。いくつかの局面では、これらの細胞は、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の2、4、もしくは6週間後または3、6、12、18、24、30、もしくは36ヶ月後または1、2、3、4、5年後もしくはそれ以上の後にまたは少なくともこれらの期間後に、検出される。特定の態様では、これらの細胞は、対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部などの対象中の区域の破壊の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、もしくは28日後

10

20

30

40

50

または少なくともこれらの日数後に、対象において検出される。いくつかの態様では、これらの細胞は、対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部などの対象中の区域の治療および/または破壊の2、4、もしくは6週間後または3、6、12、18、24、30、もしくは36ヶ月後または1、2、3、4、5年後もしくはそれ以上の年数後または少なくともこれらの期間後に、検出される。

【0368】

いくつかの態様では、細胞の存在および/または量は、対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部などの対象中の区域が、治療期間にわたる複数の治療、手順、または操作によって治療および/または破壊された後の一定量の時間後に検出され、時間の量は、最初の治療、手順、または操作の開始から測定される。特定の態様では、細胞の存在および/または量は、対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部などの対象中の区域が、治療期間にわたる複数の治療、手順、または操作によって治療および/または破壊された後の一定量の時間後に検出され、時間の量は、最終的な治療、手順、または操作の終了から測定される。

10

【0369】

拡大および/または持続性を示す、曝露、例えば細胞数、例えばT細胞療法のために投与されるT細胞の数は、対象が曝露される細胞の最大数、検出可能な細胞または一定の数もしくは割合を超える細胞の持続期間、経時的な細胞数についての曲線下面積、および/またはそれらの組み合わせならびにそれらの指標によって表され得る。そのような転帰は、腫瘍試料などの特定の試料中、例えば血液、血清、血漿もしくは組織中の核酸もしくはDNAの総量と比較して、組換え受容体をコードする核酸のコピー数を検出するためのqPCR、および/または通常は受容体に特異的な抗体を使用して受容体を発現する細胞を検出するフローサイトメトリー・アッセイなどの公知の方法を用いて評価し得る。細胞ベースのアッセイも、疾患もしくは状態の細胞に結合するおよび/もしくはそれを中和するおよび/もしくはそれに対する応答、例えば細胞傷害性応答を誘導することができる、または受容体によって認識された抗原を発現することができる細胞などの、機能的細胞の数または割合を検出するために使用し得る。

20

【0370】

いくつかの局面では、細胞への対象の曝露の増加は、細胞の拡大の増加を含む。いくつかの態様では、受容体発現細胞、例えばCAR発現細胞は、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与後に対象において拡大する。特定の態様では、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）の破壊は、受容体発現細胞、例えばCAR発現細胞への曝露の増加、例えば破壊の直前の細胞の拡大と比較して、または区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）の破壊前の対象における細胞のピーク拡大と比較して、対象における細胞の拡大の増加をもたらす。

30

【0371】

いくつかの局面では、方法、例えば区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）を破壊することは、例えばフローサイトメトリーによって測定される、投与された細胞のインビオでの高い増殖をもたらす。いくつかの局面では、細胞の高いピーク割合が検出される。例えば、いくつかの態様では、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与後のピークまたは最大レベルにおいて、対象の血液もしくは疾患部位またはその白血球画分、例えばPBMC画分もしくはT細胞画分中で、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%の細胞が組換え受容体、例えばCARを発現する。

40

【0372】

いくつかの態様では、方法、例えば区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）を破壊することは、対象の血液または血清または他の体液または器官または組織において、DNA 1マイクログラム当たり少なくとも100、500、1,000、1,500、2,000、5,000、10,000もしくは15,000コピーの受容体、例えばCARをコードする

50

核酸、または末梢血単核細胞 (PBMC) の総数、単核細胞の総数、T細胞の総数、もしくはマイクロリットルの総数当たり少なくとも0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、もしくは0.9個の受容体発現、例えばCAR発現細胞の最大濃度をもたらす。いくつかの態様では、受容体を発現する細胞は、対象の血液中の全PBMCの少なくとも10、20、30、40、50、もしくは60%として、および/またはT細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の開始後少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、24、36、48、もしくは52週間、またはそのような投与後1、2、3、4、もしくは5年間もしくはそれ以上の年数にわたってそのようなレベルで検出される。

【0373】

いくつかの局面では、方法は、例えば対象の血清、血漿、血液または組織中、例えば腫瘍試料中のDNA 1マイクログラム当たり、組換え受容体、例えばCARをコードする核酸のコピー数の少なくとも2倍、少なくとも4倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍の増加をもたらす。

【0374】

いくつかの態様では、受容体を発現する細胞は、対象の血清、血漿、血液または組織、例えば腫瘍または病変試料中で、例えばqPCRまたはフローサイトメトリーに基づく検出方法などの特定の方法によって、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の少なくとも20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、または60日またはそれ以上の日数後に、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与後少なくともまたは少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24週間またはそれ以上の週にわたって検出される。特定の態様では、受容体を発現する細胞は、対象の血清、血漿、血液または組織中で、区域（例えば対象の組織、器官、腫瘍もしくは病変区域またはその領域もしくは一部）の治療および/または破壊の少なくとも20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、または60日またはそれ以上の日数後に、病変の治療および/または破壊後少なくともまたは少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24週間またはそれ以上の週にわたって検出される。

【0375】

いくつかの局面では、少なくとも約 1×10^2 、少なくとも約 1×10^3 、少なくとも約 1×10^4 、少なくとも約 1×10^5 、少なくとも約 1×10^6 、少なくとも約 5×10^6 、少なくとも約 1×10^7 、少なくとも約 5×10^7 、もしくは少なくとも約 1×10^8 個の組換え受容体発現細胞、例えばCAR発現細胞、および/または1マイクロリットル当たり少なくとも10、25、50、100、200、300、400、500もしくは1000個の受容体発現細胞、例えば1マイクロリットル当たり少なくとも10個の細胞が、対象またはその体液、血漿、血清、組織、もしくは区画において、例えば末梢血などの血液中で、または病変腫瘍などのその疾患部位において、検出可能であるかまたは存在する。いくつかの態様では、そのような数または濃度の細胞は、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与後、少なくとも約20日間、少なくとも約40日間、もしくは少なくとも約60日間、または少なくとも約3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月間、または少なくとも2もしくは3年間、対象において検出可能である。特定の態様では、そのような数または濃度の細胞は、病変の治療および/または破壊後、少なくとも約20日間、少なくとも約40日間、もしくは少なくとも約60日間、または少なくとも約3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月間、または少なくとも2もしくは3年間、対象において検出可能である。そのような細胞数は、フローサイトメトリーに基づく方法または定量的PCRに基づく方法および公知の方法を用いた総細胞数への外挿によって検出される通りであり得る。例えばBrentjens et al., Sci Transl Med.2013 5 (177) , Park et al., Molecular Therapy 15 (4) :825-833 (2007) , Savoldo et al., JCI 121 (5) :1822-1826 (2011) , Davila et al., (2013) PLoS ONE 8 (4) :e61338, Davila et al., Oncoimmunology 1 (9) :1577-1583 (2012) , Lamers, Blood 2011 117:72-82, Jensen et al., Biol Blood

10

20

30

40

50

Marrow Transplant 2010 September ; 16 (9) :1245-1256, Brentjens et al., Blood 2011 118 (18) :4817-4828 参照。

【 0 3 7 6 】

いくつかの局面では、免疫組織化学、PCR、および/またはフローサイトメトリーによって測定される、例えば末梢血または骨髄または他の区画における100細胞当たりの組換え受容体をコードする核酸のコピー数、例えばベクターコピー数は、細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の少なくとも約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、もしくは少なくとも約6週間後、または少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月後、または少なくとも2もしくは3年後に、少なくとも0.01、少なくとも0.1、少なくとも1、または少なくとも10である。いくつかの態様では、ゲノムDNA 1マイクログラム当たりの、受容体、例えばCARを発現するベクターのコピー数は、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与の約1週間、約2週間、約3週間、もしくは少なくとも約4週間後の時点、またはそのような投与の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月後、または少なくとも2もしくは3年後の時点で、少なくとも100、少なくとも1000、少なくとも5000、少なくとも10,000、少なくとも15,000または少なくとも20,000である。

10

【 0 3 7 7 】

特定の態様では、免疫組織化学、PCR、および/またはフローサイトメトリーによって測定される、100細胞当たりの組換え受容体をコードする核酸のコピー数、例えばベクターコピー数は、病変の治療および/または破壊の約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、もしくは少なくとも約6週間後、または少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月後、または少なくとも2もしくは3年後に、少なくとも0.01、少なくとも0.1、少なくとも1、または少なくとも10である。いくつかの態様では、ゲノムDNA 1マイクログラム当たりの、受容体、例えばCARを発現するベクターのコピー数は、病変の治療および/または破壊の約1週間、約2週間、約3週間、もしくは少なくとも約4週間後の時点、または病変の治療および/または破壊の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月後、または少なくとも2年後もしくは3年後の時点で、少なくとも100、少なくとも1000、少なくとも5000、少なくとも10,000、少なくとも15,000、または少なくとも20,000である。

20

【 0 3 7 8 】

いくつかの局面では、細胞によって発現される受容体、例えばCARは、細胞の投与後、例えばT細胞の投与の開始後少なくとも約3ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約12ヶ月、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、または3年を超える時点で、対象、その血漿、血清、血液、組織および/または疾患部位、例えば腫瘍部位において、定量的PCR (qPCR) またはフローサイトメトリーによって検出可能である。特定の態様では、細胞によって発現される受容体は、病変の治療および/または破壊後、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約12ヶ月、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、または3年を超える時点で、対象、その血漿、血清、血液、組織および/または疾患部位、例えば病変もしくは腫瘍部位において検出可能である。いくつかの態様では、T細胞、例えばCAR発現T細胞の投与後の経時的な、対象の体液、血漿、血清、血液、組織、器官、および/または疾患部位、例えば腫瘍部位における受容体（例えばCAR）発現細胞の濃度についての曲線下面積 (AUC) を測定する。

30

【 0 3 7 9 】

D. 奏効、有効性、および生存率

いくつかの態様では、対象が別の治療に対して抵抗性になった、および/または組換え受容体発現細胞、例えばCAR + T細胞などの遺伝子操作された細胞の投与後に再発したにもかかわらず、投与は対象を有効に治療する。いくつかの態様では、本発明の方法に従って治療された対象の少なくとももしくは少なくとも約50%、対象の少なくとももしくは少なくとも約60%、対象の少なくとももしくは少なくとも約70%、対象の少なくとももしくは少なくとも約80%、または対象の少なくとももしくは少なくとも約90%が、完全寛解 (CR) および/または客観的奏効 (OR) を達成する。

40

50

【0380】

いくつかの態様では、例えば遺伝子操作された細胞の投与後に区域または病変を破壊することを含む、提供される方法に従って治療された対象は、組換え受容体発現細胞などの遺伝子操作された細胞の投与を含むが、本明細書で述べるような区域または病変の治療および/または破壊を含まない方法と比較して、より持続性の応答を達成するか、またはそのように治療された複数の対象において平均してより持続性の応答を達成する。いくつかの場合には、奏効期間 (DOR) の尺度は、腫瘍応答の記録から疾患の進行までの時間を含む。いくつかの態様では、応答を評価するためのパラメータには、持続性の応答、例えば治療の開始後に応答が観察された後、または遺伝子操作された細胞の開始後の区域もしくは病変の治療および/もしくは破壊後の、一定期間後まで持続する応答が含まれ得る。いくつかの態様では、持続性応答は、療法の開始後、または遺伝子操作された細胞の投与開始後の区域もしくは病変の治療および/もしくは破壊後、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18または24ヶ月での奏効率によって示される。いくつかの態様では、応答は、3ヶ月を超えて、6ヶ月を超えて、12ヶ月を超えて、18ヶ月を超えて、24ヶ月を超えて、30ヶ月を超えて、36ヶ月を超えて、またはそれ以上の期間にわたって持続する。いくつかの特定の態様では、この方法に従って治療された対象は、対象が以前に遺伝子操作された細胞の投与に応答した寛解後に再発した後も、持続性応答を達成する。

10

【0381】

いくつかの局面では、CLLを有する対象などの対象における奏効率は、慢性リンパ性白血病に関する国際ワークショップ (IWCLL) の効果判定基準に基づく (Hallek, et al., Blood 2008, Jun 15; 111 (12): 5446-5456)。いくつかの局面では、これらの基準は次のように記載されている: 完全寛解 (CR)、これは、いくつかの局面では免疫表現型検査による末梢血のクローニングリンパ球の非存在、リンパ節症の非存在、肝腫大または巨脾腫の非存在、全身症状の非存在および十分な血球数を必要とする; 不完全骨髄回復を伴う完全寛解 (CRI)、これは、いくつかの局面では上記のCRと表されるが、正常な血球数を伴わない; 部分寛解 (PR)、これは、いくつかの局面では末梢血球数の改善を伴う、リンパ球数の50%以上の減少、リンパ節症の50%以上の減少、または肝臓もしくは脾臓の50%以上の減少として表される; 進行性疾患 (PD)、これは、いくつかの局面ではリンパ球数の5x10⁹/Lを超える50%以上の上昇、リンパ節症の50%以上の増加、肝臓もしくは脾臓のサイズの50%以上の増大、リビター形質転換、またはCLLによる新たな血球減少症として表される; および安定疾患、これは、いくつかの局面ではCR、CRI、PRまたはPDの基準に合致しないものと表される。

20

【0382】

いくつかの態様では、細胞用量の投与から1ヶ月以内に、対象のリンパ節が20mm未満もしくは約20mm未満のサイズ、または10mm未満もしくは約10mm未満のサイズ、または10mm未満もしくは約10mm未満のサイズである場合、対象はCRまたはORを示す。特定の態様では、病変の治療および/または破壊の投与から1ヶ月以内に、対象のリンパ節が20mm未満もしくは約20mm未満のサイズ、または10mm未満もしくは約10mm未満のサイズ、または10mm未満もしくは約10mm未満のサイズである場合、対象はCRまたはORを示す。

30

【0383】

いくつかの態様では、CLLの指標クローニングが対象の骨髄において(または本発明の方法に従って治療された対象の50%、60%、70%、80%、90%またはそれ以上の骨髄において)検出されない。いくつかの態様では、CLLの指標クローニングは、IgHディープシークエンシングによって評価される。いくつかの態様では、細胞の投与から1、2、3、4、5、6、12、18または24ヶ月後の時点、またはおよそこれらの時点、または少なくとももしくは少なくともおよそこれらの時点で指標クローニングが検出されない。

40

【0384】

いくつかの局面において、応答評価は、臨床的、血液学的、および/または分子的方法のいずれかを利用する。いくつかの局面において、応答はLugano基準 (Cheson, et al., (2014) JCO 32 (27): 3059-3067; Johnson, et al., (2015) Radiology 2:323-338; Che

50

son, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4 (1) :5) を用いて評価される。いくつかの局面において、応答評価では、臨床的方法、血液学的方法および/または分子的方法のいずれもが利用される。いくつかの局面において、Lugano基準を使用して評価される応答は、陽電子放射断層撮影法 (PET) - コンピュータ断層撮影法 (CT) および/またはCTを必要に応じて使用することを伴う。PET-CT評価は、フルオロデオキシグルコース (FDG) をFDG親和性リンパ腫のために使用することをさらに含む場合がある。いくつかの局面において、PET-CTが、応答をFDG親和性組織学において評価するために使用されるであろう場合には、5段階尺度が使用され得る。いくつかの点で、5段階尺度は下記の評価基準を含む ; 1、バックグラウンドを超える取り込みが認められない ; 2、縦隔以下である取り込み ; 3、縦隔を超えるが、肝臓以下である取り込み ; 4、肝臓を穏やかに超える取り込み ; 5、肝臓および/または新病変よりも著しく高い取り込み ; X、リンパ腫に関連づけられるとは思われない新しい取り込み領域。

10

【 0 3 8 5 】

いくつかの局面において、Lugano基準を使用して記載されるような完全奏効は、様々な測定可能な部位における完全な代謝的応答および完全な放射線学的応答を伴う。いくつかの局面において、これらの部位には、リンパ節およびリンパ節外部位が含まれ、この場合、CRが、PET-CTが使用されるときには5段階尺度で、残留塊の有無にかかわらず、1、2または3のスコアとして記載される。いくつかの局面において、生理学的取り込みが高いまたは脾臓内もしくは骨髄内での活性化 (例えば、化学療法または骨髄性コロニー刺激因子による) を伴うワルダイエル輪部位またはリンパ節外部位では、取り込みが、正常な縦隔および/または肝臓を超えている場合がある。この状況では、最初の関与の部位における取り込みが周囲の正常な組織と同じくらいであるならば、たとえ組織が高い生理的取り込みを有しているとしても、完全な代謝的応答が推測され得る。いくつかの局面において、応答が、CTを使用してリンパ節において評価され、この場合、CRが、疾患のリンパ節外部位がないとして記載され、標的リンパ節/結節性塊が、病変の最長横径 (LD_i) において 1.5 cm 以下にまで退行しなければならない。評価のさらなる部位には、骨髄が含まれ、この場合、PET-CTに基づく評価は、骨髄におけるFDG親和性疾患の証拠が不足していることを示さなければならず、CTに基づく評価は正常な形態学を示さなければならず、この場合は、不確定であるならば、IHC陰性でなければならない。さらなる部位には、正常にまで退行しなければならないが、器官拡張の評価が含まれる場合がある。いくつかの局面において、非測定病変および新病変が評価され、これらは、CRの場合には非存在でなければならない (Cheson et al., (2014) JCO 32 (27) :3059-3067 ; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338 ; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4 (1) :5) 。

20

【 0 3 8 6 】

いくつかの局面において、Lugano基準を使用して記載されるような部分奏効 (PR) は、様々な測定可能な部位における部分的な代謝的応答および/または放射線学的応答を伴う。いくつかの局面において、これらの部位には、リンパ節およびリンパ節外部位が含まれ、この場合、PRが、PET-CTが使用されるときには、ベースラインおよび任意のサイズの残留塊と比較して、低下した取り込みとともに4または5のスコアとして記載される。暫定的に、そのような所見は応答性疾患を示す可能性がある。処置終了時に、そのような所見は残存疾患を示す可能性がある。いくつかの局面において、応答が、CTを使用してリンパ節において評価され、この場合、PRが、標的となる6つまでの測定可能なリンパ節およびリンパ節外部位のSPDにおける 50% 以上の減少として記載される。病変が小さすぎて、CTで測定できないならば、5 mm × 5 mm がデフォルト値として割り当てられ、病変がもはや視認されないならば、値は 0 mm × 0 mm であり、5 mm × 5 mm を超えるが、正常よりも小さいリンパ節については、実測値が計算のために使用される。評価のさらなる部位には、骨髄が含まれ、この場合、PET-CTに基づく評価は、正常な骨髄における取り込みよりも大きいが、ベースラインと比較して低下した残留取り込み (許容される化学療法からの反応性変化と矛盾しない広がった取り込み) を示さなければならない。いくつかの局面において、永続的な限局性変化がリンパ節応答の状況での骨髄において認められるならば、MRIま

30

40

50

たは生検によるさらなる評価、あるいは合間でのスキャンが検討されなければならない。いくつかの局面において、さらなる部位には、器官拡張の評価が含まれてもよく、この場合、脾臓が、正常を超えての長さでの50%超の退行を有したにちがいない。いくつかの局面において、非測定病変および新病変が評価され、これらは、PRの場合には非存在/正常でなければならず、退行しなければならず、しかし、増大があってはならない。無反応/安定疾患(SD)または進行性疾患(PD)もまた、PET-CTおよび/またはCTに基づく評価を使用して測定することができる。(Cheson et al., (2014) JCO 32 (27) :3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4 (1) :5))。

【0387】

10

いくつかの点で、無増悪生存期間(PFS)が、疾患(例えば、癌など)の処置期間中および処置後における期間の長さであって、対象が該疾患を伴って生存するが、該疾患が悪化しない期間の長さとして記載される。いくつかの局面において、客観的応答(OR)が、測定可能な応答として記載される。いくつかの局面において、客観的奏効率(ORR)が、CRまたはPRを達成した患者の割合として記載される。いくつかの局面において、全生存期間(OS)が、疾患(例えば、癌など)についての診断日または処置開始日のどちらかからの期間の長さであって、該疾患と診断された対象が依然として生存している期間の長さとして記載される。いくつかの局面において、無事象生存期間(EFS)が、癌のための処置が終了した後の期間の長さであって、対象が、処置が防止または遅延のために意図されたある特定の合併症または事象を有しないままである期間の長さとして記載される。これらの事象には、癌の再発またはある特定の症状の発症(例えば、骨に拡大した癌からの骨痛など)あるいは死亡が含まれる場合がある。

【0388】

20

いくつかの局面において、RECIST基準が、客観的腫瘍応答を判定するために使用され、いくつかの局面においては、固体腫瘍における客観的腫瘍応答を判定するために使用される(Eisenhauer et al., European Journal of Cancer 45 (2009) 228-247)。いくつかの局面において、RECIST基準が、客観的腫瘍応答を標的病変について判定するために使用される。いくつかの点で、RECIST基準を使用して判定される完全奏効が、すべての標的病変の消失として記載され、病理学的リンパ節はどれも(標的であろうと、または非標的であろうと)、10 mm未満への短軸における低下を有しなければならない。他の局面において、RECIST基準を使用して判定されるような部分奏効が、ベースライン直径和を参照として採用して、標的病変の直径の和における少なくとも30%の減少として記載される。他の局面において、進行性疾患(PD)が、調べたときの最小和を参照として採用して、標的病変の直径の和における少なくとも20%の増大として記載される(直径が、調べたときの最小値であるならば、最小和はベースライン和を含む)。20%の相対的増大に加えて、和はまた、少なくとも5 mmの絶対的増大を明らかにしなければならない(いくつかの局面においては、1つまたは複数の新病変の出現もまた、進行とみなされる)。他の局面において、安定疾患(SD)が、調べている最中の最小直径和を参照として採用して、PRについて適格とするための十分な収縮、またはPDについて適格とするための十分な増大のどちらもがないとして記載される。

30

【0389】

40

いくつかの局面では、提供される方法に従った投与または治療は概して、対象における疾患または状態の拡大または負荷を軽減または予防する。例えば、疾患または状態が腫瘍である場合、本発明の方法は概して、腫瘍の大きさ、体積、転移、骨髄における芽球の割合もしくは分子的に検出可能な癌を減少させ、および/または予後もしくは生存もしくは腫瘍量に関連する他の症状を改善する。

【0390】

50

疾患負荷は、対象における、または対象の器官、組織もしくは体液、例えば腫瘍の器官もしくは組織もしくは、例えば転移を示す別の場所における、疾患の全細胞数を包含し得る。例えば、腫瘍細胞は、特定の血液悪性腫瘍の状況において血液または骨髄中で検出お

および/または定量化され得る。疾患負荷は、いくつかの態様では、腫瘍の質量、転移の数もしくは程度、および/または骨髓中に存在する芽球の割合を含み得る。

【0391】

いくつかの態様では、対象は白血病を有する。疾患負荷の程度は、血液または骨髓中の残存白血病の評価によって決定することができる。

【0392】

いくつかの態様では、例えば顕微鏡検査で検出されるように、骨髓中に5%またはそれ以上の芽球が存在する場合、例えば骨髓中に10%またはそれ以上の芽球、骨髓中に20%またはそれ以上の芽球、骨髓中に30%またはそれ以上の芽球、骨髓中に40%または以上の芽球、または骨髓中に50%またはそれ以上の芽球が存在する場合、対象は形態学的疾患を示す。いくつかの態様では、骨髓中に5%未満の芽球が存在する場合、対象は完全寛解または臨床的寛解を示す。

10

【0393】

いくつかの態様では、対象は完全な寛解を示し得るが、小さな割合の形態学的に検出不可能な（光学顕微鏡技術による）残存白血病細胞が存在する。対象が骨髓中で5%未満の芽球を示し、分子的に検出可能な癌を示す場合、対象は最小残存疾患（MRD）を示すと言われる。いくつかの態様では、分子的に検出可能な癌は、少数の細胞の高感度検出を可能にする様々な分子技術のいずれかを用いて評価することができる。いくつかの局面では、そのような技術は、染色体転座によって生成される独特的のIg/T細胞受容体遺伝子再配列または融合転写物を決定することができるPCRアッセイを含む。いくつかの態様では、フローサイトメトリーは、白血病特異的免疫表現型に基づいて癌細胞を同定するために使用することができる。いくつかの態様では、癌の分子検出は、100,000個の正常細胞中にわずか1個の白血病細胞を検出することができる。いくつかの態様では、対象は、PCRまたはフローサイトメトリーなどによって、100,000個の細胞中に少なくとも1個または1個より多い白血病細胞が検出される場合、分子的に検出可能なMRDを示す。いくつかの態様では、対象の疾患負荷は分子的に検出不可能またはMRD⁻であり、そのため、いくつかの場合には、PCRまたはフローサイトメトリー技術を用いて対象において白血病細胞を検出することができない。

20

【0394】

いくつかの局面では、疾患または状態は最初の用量の投与後も持続し、および/または最初の用量の投与は対象における疾患または状態を根絶するのに十分ではない。いくつかの態様では、疾患の消散および/または寛解などの治療に対する応答は、記載されているように区域または病変を破壊した後に、提供される方法に従って観察される。

30

【0395】

いくつかの態様では、本発明の方法は、疾患または状態の負荷、例えば腫瘍細胞の数、腫瘍の大きさ、患者の生存期間または無事象生存期間を、対象が1つもしくは複数の代替治療薬を投与されているもの、および/または対象が、提供される方法に従って操作された細胞が存在するか存在する可能性があるもしくは存在したか存在した可能性がある対象中の区域の治療および/もしくは破壊を受けていないものなどの、代替投与レジメンを用いた同等の方法で観察される減少と比較して、より大きな程度におよび/またはより長い期間にわたって減少させる。いくつかの態様では、対象における疾患または状態の負荷が検出、評価、または測定される。疾患負荷は、いくつかの局面では、対象における、または対象の器官、組織もしくは体液、例えば血液もしくは血清における疾患細胞または疾患関連細胞、例えば腫瘍細胞の総数を検出することによって検出され得る。いくつかの局面では、対象の生存、一定期間内の生存、生存の程度、無事象もしくは無症状生存の存在もしくは持続期間、または無再発生存が評価される。いくつかの態様では、疾患または状態の任意の症状が評価される。いくつかの態様では、疾患または状態の負荷の程度が特定される。

40

【0396】

いくつかの態様では、対象の無事象生存率または全生存率は、他の方法、例えば対象が

50

1つもしくは複数の代替治療薬を投与されている方法、および/または対象が、提供される方法に従って操作された細胞が存在するか存在する可能性があるもしくは存在したか存在した可能性がある対象中の区域の治療および/もしくは破壊を受けていない方法と比較して、本発明の方法によって改善される。例えば、いくつかの態様では、投与の6ヶ月後の、本発明の方法によって治療された対象の無事象生存率または確率は、約40%超、約50%超、約60%超、約70%超、約80%超、約90%超、または約95%超である。いくつかの局面では、全生存率は、約40%超、約50%超、約60%超、約70%超、約80%超、約90%超、または約95%超である。いくつかの態様では、この方法で治療された対象は、少なくとも6ヶ月まで、または少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10年までの無事象生存、無再発生存、または生存を示す。いくつかの態様では、進行までの時間は、例えば6ヶ月超もしくは約6ヶ月超、または少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10年の進行までの時間のように、改善される。

10

【0397】

いくつかの態様では、本発明の方法による治療後、再発の可能性は、他の方法、例えば対象が1つもしくは複数の代替治療薬を投与されている方法、および/または対象が、提供される方法に従って操作された細胞が存在するか存在する可能性があるもしくは存在したか存在した可能性がある対象中の区域の治療および/もしくは破壊を受けていない方法と比較して、減少する。例えば、いくつかの態様では、最初の投与後6ヶ月での再発の可能性は、約80%未満、約70%未満、約60%未満、約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、または約10%未満である。

20

【0398】

V. 定義

別途定義される場合を除き、本明細書において使用するすべての専門用語、表記法、ならびに他の技術用語および科学用語または用語法は、請求項に記載された主題が関係する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有することが意図される。いくつかの場合には、一般に理解されている意味を有する用語が、明快さのために、かつ/または即座の参照のために本明細書において定義されており、そして、そのような定義が本明細書に含まれることは、当技術分野において一般に理解されていることを超える実質的な違いを表すように必ずしも解釈されなければならないことはない。

30

【0399】

本明細書において使用する場合、「対象」は、哺乳動物、例えば、ヒトまたは他の動物などであり、典型的にはヒトである。いくつかの態様において、免疫調節剤ポリペプチド、操作された細胞、または組成物が投与される対象（例えば、患者）は哺乳動物であり、典型的には靈長類であり、例えば、ヒトなどである。いくつかの態様において、靈長類はサルまたは類人猿である。対象は雄性または雌性であることが可能であり、乳幼児期、若年期、青年期、成体期および老齢期の対象を含めて任意の好適な年齢であることが可能である。いくつかの態様において、対象は靈長類以外の哺乳動物であり、例えば、齧歯類などである。

【0400】

本明細書において使用する場合、「治療」（およびその文法上の変形、例えば、「治療する（treat）」または「治療する（treating）」など）は、疾患もしくは状態もしくは障害、あるいはそれに伴う症状、有害な影響もしくは結果、または表現型の完全または部分的な改善または軽減を示す。治療の望ましい影響には、疾患の発生または再発を防止すること、症状の軽減、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果を軽減すること、転移を防止すること、疾患進行の速度を低下させること、疾患状態の改善または緩和、ならびに寛解または改善された予後が含まれるが、これらに限定されない。これらの用語は、疾患を完全に治癒させること、あるいは、任意の症状、またはすべての症状もしくは結果に対する影響を完全に排除することを暗示していない。

40

【0401】

本明細書において使用する場合、「疾患の発症を遅らせる」とは、疾患（例えば、癌）

50

の発症を先延ばしすること、妨げること、遅くすること、遅延させること、安定させること、抑制すること、および/または延期させることを意味する。この遅れは、疾患歴および/または治療されている個体に依存して、様々な長さの期間であることが可能である。当業者には明白であるように、十分な遅れまたは著しい遅れは、個体が疾患を発症させないという点で、実際には防止を包含し得る。例えば、後期段階の癌（例えば、転移の発生など）が遅らされる場合がある。

【0402】

「防止する」は、本明細書において使用する場合、疾患に対する素因を有するかもしれないが、該疾患が未だ診断されていない対象における該疾患の発生または再発に関して予防を提供することを包含する。いくつかの態様において、提供された細胞および組成物は、疾患の発症を遅らせるために、または疾患の進行を遅くするために使用される。

10

【0403】

本明細書において使用する場合、機能または活性を「抑制する」ことは、対象となる条件またはパラメータを除いて他の点では同じ条件と比較したとき、あるいは代替では別の条件と比較して、この機能または活性を低下させることである。例えば、腫瘍成長を抑制する細胞は、該細胞の非存在下での腫瘍の成長速度と比較して腫瘍の成長速度を低下させる。

【0404】

作用物質（例えば、薬学的製剤、細胞または組成物）の「有効量」は投与との関連において、所望された結果（例えば、治療結果または予防結果など）を達成するために、そのような達成のために必要な投薬量/量において、かつ必要な期間にわたって効果的な量を示す。

20

【0405】

作用物質（例えば、薬学的製剤または操作された細胞）の「治療有効量」は、所望の治療結果、例えば、疾患、状態または障害の処置などについて所望の治療結果、および/または処置の薬物動態学的もしくは薬力学的な効果を達成するために、そのような達成のために必要な投薬量において、かつ必要な期間にわたって効果的である量を示す。治療有効量は、様々な因子、例えば、対象の疾患状態、年齢、性別および体重、ならびに投与される免疫調節ポリペプチドまたは操作された細胞などに応じて変動する場合がある。いくつかの態様において、提供された方法は、免疫調節ポリペプチド、操作された細胞、または組成物を有効量で、例えば、治療有効量で投与することを伴う。

30

【0406】

「予防有効量」は、所望の予防的結果を達成するために、そのような達成のために必要な投薬量において、かつ必要な期間にわたって効果的である量を示す。典型的には、しかし、必ずしもそうであるとは限らないが、予防的用量が、疾患に先立って、または疾患のより初期の段階で対象において使用されるので、予防有効量は治療有効量より少ないのである。

【0407】

用語「薬学的製剤」は、調製物であって、該調製物に含有される有効成分の生物学的活性が効果的であることを可能にするような形態であり、かつ、製剤が投与されるであろう対象に対して許容できないほどに毒性であるさらなる成分を何ら含有しない調製物を示す。

40

【0408】

「薬学的に許容される担体」は、対象にとって非毒性である、有効成分以外の薬学的製剤における成分を示す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤または保存剤が含まれるが、それらに限定されない。

【0409】

本明細書において使用する場合、ヌクレオチド位置またはアミノ酸位置が、開示された配列（例えば、配列表に示される配列など）におけるヌクレオチド位置またはアミノ酸位置「に対応する」という言及は、標準的なアライメントアルゴリズム（例えば、GAPアル

50

ゴリズムなど)を使用して同一性を最大とするように、開示された配列とアライメントしたときに特定されるヌクレオチド位置またはアミノ酸位置を示す。配列をアライメントすることにより、当業者は、例えば、保存されたアミノ酸残基および同一のアミノ酸残基をガイドとして使用して、対応する残基を特定することができる。通常は、対応する位置を特定するために、アミノ酸の配列は、最も高水準の一一致が得られるようにアライメントされる(例えば、Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M. and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heijne, G., Academic Press, 1987; およびSequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073を参照のこと)。

10

【0410】

用語「ベクター」は、本明細書において使用する場合、連結される別の核酸を増やすことができる核酸分子を示す。この用語には、自己複製する核酸構造物としてのベクター、同様にまた、導入されている宿主細胞のゲノムに組み込まれるベクターが含まれる。ある種のベクターは、機能的に連結される核酸の発現を導くことができる。そのようなベクターは本明細書において「発現ベクター」として示される。ベクターには、ウイルスベクター、例えば、レトロウイルスベクター(例えば、ガンマレトロウイルスベクターおよびレンチウイルスベクター)などが挙げられる。

20

【0411】

用語「宿主細胞」、用語「宿主細胞株」および用語「宿主細胞培養物」は交換可能に使用され、外因性核酸が導入されている細胞を、そのような細胞の子孫を含めて示す。宿主細胞には、「形質転換体」および「形質転換(された)細胞」が含まれ、これらには、初代形質転換細胞、および、継代数に関係なく、初代形質転換細胞に由来する子孫が含まれる。子孫は、核酸の内容において親細胞と完全に同一でなくてもよく、変異を含有する場合がある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングされた、または選択されたのと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が本明細書において含まれる。

30

【0412】

本明細書において使用する場合、細胞または細胞の集団が特定のマーカーについて「陽性」であると述べられることは、特定のマーカー(典型的には表面マーカー)が細胞表面または細胞において検出可能に存在していることを示す。表面マーカーが言及されるとき、この用語は、フローサイトメトリーによって、例えば、マーカーに特異的に結合する抗体を用いて染色し、前記抗体を検出することによって検出されるような表面発現の存在を示し、この場合、染色が、イソタイプの一一致する対照を、それ以外の点では同一の条件のもとで用いる、同じ手順を行って検出される染色を実質的に超えるレベルでフローサイトメトリーによって検出可能であり、かつ/またはマーカーについて陽性であることが知られている細胞についてのレベルと実質的に類似するレベルであり、かつ/またはマーカーについて陰性であることが知られている細胞についてのレベルよりも実質的に高いレベルである。

40

【0413】

本明細書において使用する場合、細胞または細胞の集団が特定のマーカーについて「陰性」であると述べられることは、特定のマーカー(典型的には表面マーカー)が細胞表面または細胞において実質的に検出可能に存在していることが認められないことを示す。表面マーカーが言及されるとき、この用語は、フローサイトメトリーによって、例えば、マーカーに特異的に結合する抗体を用いて染色し、前記抗体を検出することによって検出されるような表面発現の非存在を示し、この場合、染色が、イソタイプの一一致する対照を、それ以外の点では同一の条件のもとで用いる、同じ手順を行って検出される染色を実質的に超えるレベルでフローサイトメトリーによって検出されず、かつ/またはマーカーにつ

50

いて陽性であることが知られている細胞についてのレベルよりも実質的に低いレベルであり、かつ/またはマーカーについて陰性であることが知られている細胞についてのレベルと比較して実質的に類似するレベルである。

【0414】

本明細書において使用する場合、「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」および「同一性パーセント」は、アミノ酸配列(参照ポリペプチド配列)に関して使用するときには、最大の配列同一性パーセントを達成するように配列をアライメントし、必要ならば、ギャップを導入した後、かつ、どのような保存的置換も配列同一性の一部として考慮せずに、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である候補配列(例えば、対象となる抗体またはフラグメント)におけるアミノ酸残基の百分率として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアライメントを、当技術分野における技量の範囲内にある様々な方法で、例えば、公開されているコンピュータソフトウェア(例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMegalign(DNASTAR)のソフトウェアなど)を使用して達成することができる。当業者は、最大のアライメントを比較されている配列の全長にわたって達成するために必要とされる任意のアルゴリズムを含めて、配列をアライメントするための適切なパラメータを決定することができる。

【0415】

本明細書において使用する場合、単数形である「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、文脈がそうでないことを明確に示す場合を除き、複数形の言及物を包含する。例えば、「1つの(a)」または「1つの(an)」は、「少なくとも1つ」または「1つまたは複数」を意味する。本明細書において記載される様々な局面および変形は、様々な局面および変形「からなる」こと、ならびに/あるいは様々な局面および変形「から本質的になる」ことを包含することができる。

【0416】

本開示の全体を通して、請求項に記載される主題の様々な局面が範囲形式で示される。範囲形式での記載は単に便宜および簡潔性のためであり、請求項に記載される主題の範囲に関して柔軟性のない限定として解釈してはならないことを理解しなければならない。したがって、範囲の記載は、可能な部分範囲、同様にまた、その範囲に含まれる個々の数値をすべて具体的に開示していると見なされなければならない。例えば、値の範囲が与えられる場合、その範囲の上限と、下限との間におけるそれぞれの中間の値、およびその指定された範囲における任意の他の指定された値または中間の値が、請求項に記載される主題の範囲内に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限がこれらのより小さい範囲に独立して含まれてもよく、これらもまた、指定された範囲における任意の具体的に除外された限界点に従うことを条件にして、請求項に記載される主題の範囲内に包含される。指定された範囲が限界点の一方または両方を含む場合、そのような含まれた限界点のどちらかまたは両方を除外する範囲もまた、請求項に記載される主題の範囲内に含まれる。このことは、範囲の広さにかかわらず、当てはまる。

【0417】

用語「約」は、本明細書において使用する場合、この技術分野における当業者には容易に理解されるそれぞれの値についての通常の誤差範囲を示す。「約」を伴って値またはパラメータが本明細書において示される場合、その値またはパラメータそのものに向けられる態様が含まれる(記載される)。例えば、「約X」が示される記載では、「X」の記載が含まれる。いくつかの態様において、約という用語は、±25%、±20%、±10%、±5%を指す。

【0418】

本明細書において使用する場合、組成物は、細胞を含めて、2つ以上の製造物、物質または化合物の混合物をどのようなものであっても示す。組成物は、溶液、懸濁物、液体、粉末、ペースト、水性、非水性、またはそれらの任意の組合せであり得る。

【0419】

本出願中で言及される特許文書、科学論文およびデータベースを含むすべての刊行物は

10

20

30

40

50

、あたかも各々個々の刊行物が個別に参照により組み入れられるのと同程度に、すべての目的のためにそれらの全体が参照により組み入れられる。本明細書に示す定義が、参照により本明細書に組み入れられる特許、出願、公開出願、および他の刊行物に示す定義と相反する、またはそうでなくとも矛盾する場合、本明細書に示す定義が、参照により本明細書に組み入れられる定義より優先される。

【0420】

本明細書で使用される章の見出しへは、構成目的のためだけのものであり、記載されている主題を限定すると解釈されるべきではない。

【0421】

VI. 例示的な態様

10

提供される態様には以下のものがある：

1. 遺伝子操作された細胞が存在するかもしくは存在する可能性があるまたは存在したかもしくは存在した可能性がある対象の区域の破壊を行うことを含み、前記対象が、疾患または状態を治療するために遺伝子操作された細胞の投与を以前に受けたことがある、遺伝子操作された細胞を拡大するための方法であって、対象、区域、および/または対象の組織もしくは器官もしくは体液における遺伝子操作された細胞の拡大、ならびに/または区域、組織もしくは器官もしくは体液中の遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす、方法。

2. 遺伝子操作された細胞のその後の投与を含まず、および/または遺伝子操作された細胞のそのようなその後の投与なしに拡大が達成される、態様1記載の方法。

20

3. 疾患または状態を治療するために遺伝子操作された細胞を以前に投与されたことがある対象に治療レジメンを投与することを含む治療方法であって、対象、区域、および/または対象の組織もしくは器官もしくは体液における遺伝子操作された細胞の拡大、ならびに/または区域、組織もしくは器官もしくは体液中の遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす、方法。

4. 治療レジメンが、操作された細胞が存在する、存在するかもしくは存在したことが疑われる、または存在する可能性がある対象の区域の破壊を含む、態様4記載の方法。

5. 治療レジメンおよび/または方法が、遺伝子操作された細胞のまたは前記遺伝子操作された細胞のその後の投与を含まず、および/またはそのようなその後の投与なしに拡大が達成される、態様3または4記載の方法。

30

6. 治療レジメンが治療用量以下の用量で投与され、および/または遺伝子操作された細胞の拡大を介してその治療効果を引き出す、態様3~5のいずれか1つ記載の方法。

7. 区域が病変もしくはその一部であるかまたはそれを含む、態様1、2および4~6のいずれか記載の方法。

8. 病変が腫瘍である、態様7記載の方法。

9. 腫瘍が原発性または続発性腫瘍である、態様8記載の方法。

10. 区域が骨髄組織であるかまたはそれを含む、態様1、2および4~6のいずれか記載の方法。

11. 破壊の時点ではまたはその直前に、対象が応答後に、任意に寛解後に再発した、および/または遺伝子操作された細胞の投与に応答しなかった、態様1、2および4~10のいずれか1つ記載の方法。

40

12. 対象が、遺伝子操作された細胞の以前の投与に対する応答後に再発した、および/または投与に応答しなかった、態様1~11のいずれか1つ記載の方法。

13. 対象が遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後破壊の前に応答しなくなった、および/または再発した、態様1~12のいずれか1つ記載の方法。

14. 遺伝子操作された細胞が、対象において以前に拡大したことがあるか、または破壊前に拡大したことが観察されている、態様1~13のいずれか1つ記載の方法。

15. 破壊の時点またはその直前に、

対象が寛解期にある；

血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が減少しているかもしくは検出不能であ

50

る；

対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、遺伝子操作された細胞の投与後の先行する時点と比較して減少している；ならびに/または

対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、遺伝子操作された細胞の投与の開始後に対象の血液中で検出可能なもしくは検出された遺伝子操作細胞のピークもしくは最大数と比較して、および/または遺伝子操作された細胞の投与後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、もしくは14もしくは28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍、もしくはそれ以上、もしくはそれを超えて、減少している、

10

態様1～14のいずれか記載の方法。

16. 破壊が、遺伝子操作された細胞の投与開始後、または遺伝子操作された細胞の最後の投与後2週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、1年またはそれ以上の時点、およそこれらの時点、これらを超える時点、またはおよそこれらを超える時点で行われる、態様1～15のいずれか記載の方法。

17. 破壊が、対象においてインビボで遺伝子操作されたT細胞の活性または機能を直接的または間接的に調節する、態様1～16のいずれか記載の方法。

18. 破壊が、免疫調節剤の投与、放射線、または区域もしくは病変の物理的もしくは機械的操作の1つまたは複数を含む、態様1～17のいずれか記載の方法。

20

19. 破壊が免疫調節剤の投与を含む、態様1～18のいずれか記載の方法。

20. 免疫調節剤が、免疫阻害分子であるかもしくはそれを含む、免疫チェックポイント分子もしくは免疫チェックポイント経路のメンバーであるかもしくはそれを含む、および/または免疫チェックポイント分子もしくは経路の調節剤であるかもしくはそれを含む、態様19記載の方法。

21. 免疫チェックポイント分子または経路が、PD-1、PD-L1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、VISTA、アデノシン受容体、CD73、CD39、アデノシン2A受容体(A2AR)、もしくはアデノシン、または前記のいずれかを含む経路であるかまたはそれを含む、態様20記載の方法。

22. 免疫調節剤が、BY55、MSB0010718C、イピリムマブ、ダクリズマブ、ベバシズマブ、バシリキシマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ベンプロリズマブ、MPDL3280A、ピジリズマブ、MK-3475、BMS-936559、アテゾリズマブ、トレメリムマブ、IMP321、BMS-986016、LAG525、ウレルマブ、PF-05082566、TRX518、MK-4166、ダセツズマブ、ルカツムマブ、SEA-CD40、CP-870、CP-893、MEDI6469、MEDI6383、MOXR0916、AMP-224、アベルマブ、MEDI4736、PDR001、rH IgM12B7、ウロクブルマブ、BKT140、バルリルマブ、ARGX-110、MGA271、リリルマブ、IPH2201、ARGX-115、エマクツズマブ、CC-90002およびMNR1685Aまたはその抗体結合断片である、態様1～20のいずれか記載の方法。

30

23. 免疫調節剤が抗PD-L1抗体である、態様1～22のいずれか記載の方法。

24. 抗PD-L1抗体がMEDI14736、MDPL3280A、BMS-936559、LY3300054、アテゾリズマブもしくはアベルマブであるか、またはその抗原結合断片である、態様1～23記載の方法。

25. 免疫調節剤がサリドマイドであるか、またはサリドマイドの誘導体もしくは類似体である、態様19記載の方法。

40

26. 免疫調節剤が、レナリドミド、ポマリドミド、アバドミド、またはレナリドミド、ポマリドミド、アバドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である、態様19または25記載の方法。

27. 免疫調節剤が、レナリドミド、レナリドミドの立体異性体、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物、水和物、共結晶、包接化合物、もしくは多形体である、態様19、25および26のいずれか記載の方法。

28. 再発後および破壊前に、対象が、疾患または状態を治療するためまたは遺伝子操作された細胞の活性を調節するための外因性または組換え作用物質を投与されたことがない、態様1～27のいずれか記載の方法。

50

29. 破壊が放射線を含む、態様1～19および28のいずれか記載の方法。

30. 破壊が、区域または病変の物理的または機械的操作を含み、任意に、区域または病変を探査する、突き刺す、または貫通することを含む、態様1～19および28のいずれか記載の方法。

31. 物理的または機械的操作が生検を含む、態様30記載の方法。

32. 生検が針またはトロカールによって行われる、態様31記載の方法。

33. 生検が切開生検を含む、態様31または32記載の方法。

34. 破壊の直前の時点と比較して、遺伝子操作された細胞の拡大または遺伝子操作された細胞の数の増加をもたらす、態様1～34のいずれか記載の方法。

35. 遺伝子操作された細胞の拡大が、破壊後24時間、48時間、96時間、7日間、14日間もしくは28日間以内またはおよそこれらの期間以内に起こる、態様1～34のいずれか記載の方法。

36. 拡大が、破壊の直前と比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、またはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、またはそれ以上を超える、血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞をもたらすか；または

拡大が、破壊前の血液中の操作された細胞の事前のピークレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超えるか、または約1.5倍、2.0倍、5.0倍、10倍、100倍、200倍、もしくはそれ以上を超える、血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞をもたらす、

態様1～35のいずれか記載の方法。

37. 破壊後の時点での血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、

破壊前の先行する時点での遺伝子操作された細胞の数と比較して増加している（例えば1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、またはそれ以上の増加）；

破壊前の対象の血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞のピークまたは最大数よりも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、50倍、100倍、またはそれ以上を超える；

遺伝子操作された細胞の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、または0.1%超または約10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%、または0.1%超が、そのような細胞の最大レベルのピークが血液中で検出された後の時点で、血液中で検出可能である、

態様1～36のいずれか記載の方法。

38. 操作された細胞が、疾患もしくは状態に関連するかまたは環境もしくは区域、任意に病変の細胞において発現される抗原に特異的に結合する組換え受容体を発現する、態様1～37のいずれか記載の方法。

39. 疾患または状態が腫瘍または癌である、態様1～38のいずれか記載の方法。

40. 疾患または状態が白血病またはリンパ腫である、態様1～39のいずれか記載の方法。

41. 疾患または状態が非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）または慢性リンパ性白血病（CLL）である、態様1～40のいずれか記載の方法。

42. 組換え受容体が、T細胞受容体または機能的非T細胞受容体である、態様1～41のいずれか記載の方法。

43. 組換え受容体がキメラ抗原受容体（CAR）である、態様1～42のいずれか記載の方法。

44. CARが、抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインおよびITAMを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む、態様43記載の方法。

45. 抗原がCD19である、態様38～44のいずれか記載の方法。

46. 細胞内シグナル伝達ドメインがCD3-ゼータ（CD3 ζ ）鎖の細胞内ドメインを含む、態様44または45記載の方法。

47. CARが共刺激シグナル伝達領域をさらに含む、態様43～46のいずれか記載の方法。

48. 共刺激シグナル伝達ドメインがCD28または4-1BBのシグナル伝達ドメインを含む、態様35記載の方法。

10

20

30

40

50

49. 操作された細胞がCD4+またはCD8+T細胞である、態様1~48のいずれか記載の方法。
 50. T細胞療法が、対象由来の初代細胞を含む、態様1~49のいずれか記載の方法。
 51. 操作された細胞が対象に対して自己由来である、態様1~49のいずれか記載の方法。
 52. 操作された細胞が対象に対して同種異系である、態様1~49のいずれか記載の方法。
 53. 対象がヒトである、態様1~52のいずれか記載の方法。

54. 以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、それぞれ両端の値を含む、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ もしくは約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^8$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、または $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ もしくは約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) である、態様1~53のいずれか記載の方法。

55. 以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、 1×10^8 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、 1×10^7 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、 0.5×10^7 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、 1×10^6 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) 、 0.5×10^6 以下の総組換え受容体発現細胞、総T細胞、もしくは総末梢血単核細胞 (PBMC) である、態様1~54のいずれか記載の方法。

56. 以前に投与された遺伝子操作された細胞の用量が、それぞれ両端の値を含む、対象の体重1kg当たり約 0.25×10^6 細胞/kg ~ 5×10^6 細胞/kg、対象の体重1kg当たり 0.5×10^6 細胞/kg ~ 3×10^6 細胞/kg、約 0.75×10^6 細胞/kg ~ 2.5×10^6 細胞/kg、または約 1×10^6 細胞/kg ~ 2×10^6 細胞/kgである、態様1~53のいずれか記載の方法。

57. 遺伝子操作された細胞の前記用量が、細胞を含む単一の薬学的組成物において、または一緒に細胞を含む複数の組成物として投与される、態様1~56のいずれか記載の方法。

58. 投与される操作された細胞が分割用量であり、前記用量の細胞が、3日以内の期間にわたって前記用量の細胞を集合的に含む複数の組成物中で投与される、態様1~57のいずれか記載の方法。

59. 任意に、対象が先行する破壊後の応答の後に再発したおよび/または先行する破壊後に完全奏効を達成しなかった後に、その後の破壊を行うことを含む、態様1~58のいずれか記載の方法。

60. 対象が、先行する破壊後に遺伝子操作された細胞に応答したことがあり、その後、後続の破壊の前に応答しなくなったおよび/または再発した、態様59記載の方法。

61. 遺伝子操作された細胞が対象において拡大したことがある、または先行する破壊の後および後続の破壊の前に拡大したことが観察されている、態様59または60記載の方法。

62. その後の破壊の時点またはその直前に、

対象が寛解期にある；

血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が減少しているかもしくは検出不能である；

対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、先行する破壊の開始後の先行する時点と比較して減少している；ならびに/または

対象からの体液、組織もしくは試料、任意に血液中で検出可能な遺伝子操作された細胞の数が、先行する破壊の開始後に対象の血液中で検出可能なもしくは検出された遺伝子操作細胞のピークもしくは最大数と比較して、および/または先行する破壊の開始後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、もしくは14もしくは28日以内の時点でのレベルと比較して、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍、もしくはそれ以上減少している

10

20

30

40

50

、 態様59～61のいずれか記載の方法。

63. 破壊の非存在下で遺伝子操作された細胞が対象に投与される方法と比較して、前記遺伝子操作された細胞が対象において拡大および/または持続性の増大または延長を示す、態様1～62のいずれか記載の方法。

64. 任意に同じ用量または投与スケジュールで、破壊の非存在下で遺伝子操作された細胞が対象に投与される、および/または遺伝子操作された細胞の非存在下で治療レジメンが投与されるもしくは破壊が行われる同等の方法で観察されるであろう減少と比較して、腫瘍量をより大きな程度でおよび/またはより長い期間にわたって減少させる、態様1～63のいずれか記載の方法。

10

【実施例】

【0422】

VII. 実施例

以下の実施例は、例示のみを目的として含まれるものであり、本発明の範囲を限定することを意図しない。

【0423】

実施例1：対象への抗CD19 CAR発現細胞の投与

再発性または難治性（R/R）非ホジキンリンパ腫（NHL）の28名の対象に、抗CD19キメラ抗原受容体（CAR）を発現する自己T細胞を投与した。対象の人口統計学およびベースライン特徴を表1に示す。CARは、マウス抗体由来の抗CD19 scFv、免疫グロブリン由来のスペーサー、CD28由来の膜貫通ドメイン、4-1BB由来の共刺激領域、およびCD3 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。自己CAR発現T細胞を作製するために、個々の対象由来の白血球除去試料から免疫親和性に基づく濃縮によってT細胞を単離し、活性化し、抗CD19 CARをコードするウイルスベクターで形質導入し、続いて拡大させた。細胞は概ね、約1:1の標的CAR⁺CD4⁺T細胞対CAR⁺CD8⁺T細胞比で対象に投与された。

20

【0424】

（表1）人口統計学およびベースライン特徴

特徴	N=28
年齢中央値、歳（範囲）	63 (37-79)
≥ 70 歳, n (%)	6 (21)
男性/女性, n (%)	19/9 (68/32)
B-NHL サブタイプ, n (%)	
DLBCL, NOS	15 (54)
形質転換DLBCL	10 (36)
濾胞性、グレード3B	1 (4)
MCL	2 (7)
疾患状態, n (%)	
* 難治性	24 (86)
† 化学療法抵抗性	23 (82)
ベースラインECOGスコア, n (%)	
0	14 (50)
1	10 (36)
2	4 (14)
治療歴	
中央値（範囲）	4 (1-8)
≥ 5, n (%)	7 (25)
以前の造血幹細胞移植, n (%)	
何らかのHSCT	16 (57)
同種異系	4 (14)
自己由来	13 (46)

* 最後の治療に対してCR未満

† 最後の化学療法を含むレジメンに対してSDもしくはPDまたは自己由来SCT後12ヶ月未満に再発

【0425】

CAR発現T細胞の投与 (d = 0) の前に、対象を1日30mg/m²のフルダラビンで3日間および1日300mg/m²のシクロホスファミドで3日間処置した。凍結保存した細胞組成物を静脈内投与の前に解凍した。治療用T細胞用量を、約1:1の標的比で投与される製剤化したCD4 + CAR + 細胞集団と製剤化したCD8 + CAR + 集団を投与することによって規定の細胞組成物として投与した。d = 0に、2つの用量レベルの一方（用量レベル1 (DL-1) または用量レベル2 (DL-2)）で、単回投与または2回投与スケジュールで静脈内注入によって対象の治療を開始した。投与した各用量は、 5×10^7 (DL-1) または 1×10^8 (DL-2) のCAR発現T細胞（標的1:1のCD4 + :CD8 + 比）を含んだ。この実施例における結果は、特定の対象群の、進行中の試験における特定の時点でまたは特定の時点までに観察された結果を指す。

【0426】

様々な投与スケジュールのCAR-T細胞療法で治療された対象において、様々な治療中に発生した有害事象の有無を評価した（表2）。表3に示すように、重篤なサイトカイン放出症候群 (sCRS)（グレード3～5）は観察されなかった；サイトカイン放出症候群 (CRS) は、対象の36% (10/28) で観察された。グレード3～4の神経毒性が対象の14% (4/28) で観察され、対象の18% (5/28) が何らかのグレードの神経毒性を示した。早期発症グレ

10

20

30

40

50

ード2 CRSまたは神経毒性のために、1名の対象はトシリズマブで治療され、4名の患者はデキサメタゾンを投与された。6名の対象は予防的抗てんかん薬を投与された。

【0427】

(表2) 治療中に発生した有害事象

	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	合計 N=28
何らかのTEAE	21 (96)	3 (100)	3 (100)	27 (96)
何らかのグレード3~5*のTEAE	16 (73)	3 (100)	0	19 (68)
何らかの関連したTEAE	14 (64)	2 (67)	1 (33)	17 (61)
何らかの関連したグレード3~5*のTEAE	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
15%以上の患者において報告されたすべてのグレードのTEAE 基本語、n (%)				
疲労	7 (32)	2 (67)	2 (67)	11 (39)
サイトカイン放出症候群	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
食欲不振	6 (27)	1 (33)	1 (33)	8 (29)
便秘	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
嘔吐	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
下痢	5 (23)	1 (33)	0	6 (21)
めまい感	6 (27)	0	0	6 (21)
頭痛	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
高血圧	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
恶心	3 (14)	1 (33)	1 (33)	5 (18)
末梢浮腫	5 (23)	0	0	5 (18)
臨床検査値異常				
貧血	16 (73)	1 (33)	1 (33)	18 (64)
好中球減少	22 (100)	3 (100)	2 (67)	27 (96)
血小板減少	13 (59)	3 (100)	2 (67)	18 (64)

* 進行し、後続の療法が開始されたMCLを有する患者において、CAR-T細胞療法に関連する可能性があると評価された、1例のグレード5の呼吸不全

【0428】

(表3) 特に興味深い治療中に発生した有害事象

基本語、n (%)	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	合計 N=28
何らかのサイトカイン放出症候群 (CRS)	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
グレード3-4	0	0	0	0
何らかの神経毒性*	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
グレード3-4	3 (14)	1 (33)	0	4 (14)

* 脳症、錯乱状態、意識レベル低下、嗜眠、または発作を含む

【0429】

群の中の対象を、DL1の単回投与の最後のCAR+T細胞注入後に、進行中の試験における

10

20

30

40

50

特定の時点までの期間に観察された最良総合効果について評価した。総合効果の結果を表4に示す。びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)コホートにおいてDL1の単回投与で治療された20名の対象のうちで、80%(16/20)の全奏効率(ORR)が観察され、60%(12/20)の対象が完全寛解(CR)の証拠を示した。対象の20%(4/20)は部分奏効(PR)の証拠を示し、対象の20%(4/20)は進行性疾患(PD)の証拠を示した。CAR+T細胞投与前に化学療法抵抗性であった(最後の化学療法を含むレジメン後に安定もしくは進行性疾患を示したか、または自己由来SCT後12ヶ月未満に再発した)対象のうちで、全奏効率は83%であった(100RR、7CR、3PR、2PD、n=12)。難治性であった(最後の治療後に完全寛解未満を示したが化学療法抵抗性とは見なされなかった)対象のうちで、全奏効率は77%であった(130RR、9CR、4PR、4PD、n=17)。

10

【0430】

(表4) 最良総合効果

		DLBCLコホート、DL1単回投与スケジュール	
	全体(n=20)	難治性 [*] (n=17)	化学療法抵抗性 [†] (n=12)
ORR, n (%) [95% CI]	16 (80) [56, 94]	13 (77) [50, 93]	10 (83) [52, 98]
CR, n (%) [95% CI]	12 (60) [36, 81]	9 (53) [28, 77]	7 (58) [28, 85]
PR	4 (20)	4 (24)	3 (25)
PD	4 (20)	4 (24)	2 (17)

* 最後の治療に対してCR未満

† 最後の化学療法を含むレジメンに対してSDもしくはPDまたは自己由来SCT後12ヶ月未満に再発

【0431】

評価時に2つの用量のDL-1で治療されていた3名のDLBCL対象のうちで、2名は部分奏効(PR)を示し、1名は進行性疾患(PD)を示した。評価時にDL-2の単回投与で治療されていた2名のDLBCL対象において、両方の対象がCRを達成することが観察された。評価時にDL-1の単回投与で治療されていた合計2名の対象を含むMCLコホートにおいて、1PRおよび1PDが観察された。ダブルヒットの2名の対象、トリプルヒットの3名の対象、およびダブルエクスプレッサーDLBCLの4名の対象が治療され、全員が奏効を達成した(7CR、2PR)。

30

【0432】

末梢血中のCAR⁺T細胞の数を、細胞を導入遺伝子特異的試薬と共にインキュベートすることによって処置後の特定の時点で測定した。注入後の特定の時点で測定した末梢血中のCD3⁺/CAR⁺T細胞の数を、図1Aにおいて最良総合効果によって分類した対象について示す。PDよりも高いピークのCD3⁺/CAR⁺T細胞が奏効者(CR/PR)において観察された。図1B～Dは、3ヶ月目に持続性奏効(CR/PR)またはPDのいずれかの、奏効の持続性によって分類した、奏効を達成した対象におけるCD3⁺/CAR⁺T細胞、CD4⁺/CAR⁺T細胞、およびCD8⁺/CAR⁺T細胞のレベル(細胞/μL血液；平均±SEM)のレベルを示す。奏効者(CR/PR)およびPDについてのC_{max}(CAR⁺細胞/μL血液)および曲線下面積(AUC)を決定し、表5に示した。結果は、持続的な奏効が、経時的におよびピーク拡大時に、血液中より高いCD3⁺/CAR⁺T細胞レベルと相關するという結論と一致した。

40

【0433】

(表5) PDの患者と比較してCR/PRの患者におけるより高いC_{max}およびAUC₀₋₂₈

	CD3		CD4		CD8	
	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)
C_{max} (CAR⁺ 細胞/ μL血液)						
平均(SD)	612 (1919)	2 (1)	220 (754)	1 (0.6)	426 (1314)	0.5 (0.5)
中央値 (最小値、最大値)	33 (1, 7726)	1 (1, 3)	8 (1, 3040)	1 (0, 2)	4 (0, 5238)	0.3 (0, 1)
Q1, Q3	7, 123	0.7, 2	2, 46	0.6, 2	0.8, 104	0.1, 0.9
AUC_{0-28}						
平均(SD)	5883 (18821)	16 (13)	2369 (8388)	10 (7)	3873 (11963)	6 (6)
中央値 (最小値、最大値)	196 (11, 75773)	14 (4, 31)	47 (7, 33740)	9 (3, 17)	23 (1, 47834)	4 (1, 14)
Q1, Q3	52, 781	5, 26	16, 261	4, 16	4, 761	1, 10

【 0 4 3 4 】

実施例2：抗CD19 CAR発現細胞の再拡大

実施例1で論じたように、DL-1スケジュールに従ってCAR + T細胞を投与されていた化学療法抵抗性形質転換DLBCL (BCL2再構成および複数コピーのMYCおよびBCL6を有する胚中心サブタイプ) を有する1名の対象について、特定の時点で測定した末梢血中のCD3 + /CAR + 、CD4 + /CAR + 、CD8 + /CAR + T細胞の数を図2Aに示す。対象は、以前に、用量調整したエトポシド、ドキソルビシン、ビンクリスチンとシクロホスファミド、プレドニゾンプラスリツキシマブ (DA-EPOCH-R) および8/8 HLA適合の無関係なドナーからの中強度の同種異系幹細胞移植を含む5種類の療法で治療されており、これらに対して抗療性であった。同種異型幹細胞移植後およびCAR + T細胞の投与前に、対象はすべての血液系列において100 % のドナーキメリズムを示し、免疫抑制療法を中止しており、移植片対宿主病 (GVHD) は有していないかった。CAR + T細胞の投与前に、対象は、陽電子放出断層撮影法およびコンピュータ断層撮影法 (PET-CT) によって観察され (図2B) 、磁気共鳴画像法 (MRI) によって確認された (図2D) 耳周囲の腫瘍および右側頭葉病変を有していた。

【 0 4 3 5 】

抗CD19 CAR-T細胞治療を受けた後、対象は、PET-CT (図2C) および脳MRI (図2E) によって示されたように、注入後28日でCRを達成し、神経毒性またはCRSの徵候は観察されなかった。CAR-T細胞の注入後3ヶ月で、この対象において耳周囲腫瘍の再発が認められ (図2F) 、切開生検が行われた。図2Aに示すように、生検の後、目に見える腫瘍はさらなる治療なしで後退した。薬物動態分析は、末梢血中のCAR-T細胞の著明な再拡大 (観察された初期拡大よりも高いレベルまで、注入後約113日でピークレベルが観察された) を示し、これは腫瘍退縮と一致した。次いで、生検の1ヶ月後にPET-CTを再病期分類することによって確認されたように (図2G) 、対象は2度目のCRを達成し、CAR-T細胞注入後6ヶ月目にCRのままであった。対象のさらなる評価は、CNS応答が持続性であり、対象が12ヶ月目にCRを維持していることを示した。

【 0 4 3 6 】

結果は、CAR + T細胞の再拡大および活性化が、機能的または活性CAR + T細胞の減少もしくは喪失の後、および/またはCAR-T細胞療法に対する抗腫瘍応答後の再発の後に、インビボで開始され得るという結論と一致する。さらに、最初のCAR + T細胞注入後に遅れて起こるインビボでの再拡大後に、CAR + T細胞は抗腫瘍活性を再び発揮することができる。この結果は、CAR + T細胞の再拡大および活性化がインビボで誘発され得ること、ならびにCAR + T細胞を再活性化する方法がそれらの効果をさらに増強し得ることを支持する。

【 0 4 3 7 】

10

20

30

40

50

実施例3：再発性および難治性非ホジキンリンパ腫（NHL）を有する対象への抗CD19 CAR発現細胞の投与

A. 対象および治療

CD19に特異的なキメラ抗原受容体（CAR）を発現する自己T細胞を含む治療用CAR+T細胞組成物を、B細胞悪性腫瘍を有する対象に投与した。

【0438】

実施例3.A.1

B細胞悪性腫瘍を有する患者にそのような療法を投与する進行中の臨床試験における特定の時点（3.A.1）までの評価について、結果をこの実施例3.A.1に記載する。具体的には、新たなまたは低悪性度リンパ腫（NOS）から形質転換したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫（PMBCL）、および2種類の療法の失敗後の濾胞性リンパ腫グレード3b（FLG3B）を含む、再発性または難治性（R/R）の侵襲性非ホジキンリンパ腫（NHL）を有する成人対象のコホート（全体コホート）（この時点では55名）。治療された対象の中には、0～2の米国東海岸癌臨床試験グループ（ECOG）スコア（追跡期間の中央値3.2ヶ月）を有する対象が含まれた。全体コホートには、マントル細胞リンパ腫（MCL）を有する対象は含まれなかつた。以前の同種異型幹細胞移植（SCT）の二次性中枢神経系（CNS）浸潤またはECOGスコア2に基づいて除外された対象はなく、必要なアフェレーシスのための最小絶対リンパ球数（ALC）はなかつた。

10

【0439】

全体コホート内のコアサブセットの対象（パフォーマンスステータス不良（ECOG2）、辺縁帯リンパ腫（MZL）から形質転換したDLBCL、および/または慢性リンパ性白血病（CLL、リヒター症候群）を有する対象を除く全体コホート内の対象（コアコホート））について、転帰を別々に評価した。実施例3.A.1の時点で、このコアコホート内の44名の対象についての転帰を別々に評価した。

20

【0440】

この実施例3.A.1の時点で評価した全体コホートおよびコアコホート対象の人口統計学およびベースライン特徴を表6に示す。

【0441】

（表6）人口統計学およびベースライン特徴

特徴	全体 N=55	コア N=44
年齢中央値、歳（範囲）	61 (29-82)	61 (29-82)
≥65 歳, n (%)	22 (40)	17 (39)
男性/女性, n (%)	38/17 (69/31)	28/16 (64/36)
診断からの月数、中央値（範囲）	17 (3-259)	20 (8-259)
B-NHL サブタイプ, n (%)		
DLBCL, NOS	40 (73)	35 (80)
形質転換DLBCL	14 (26)	8 (18)
濾胞性、グレード3B	1 (2)	1 (2)
分子サブタイプ, n (%)		
ダブルヒット/トリプルヒット	15 (27)	12 (27)
ダブルエクスプレッサー	6 (11)	4 (9)
患者特徴, n (%)		
化学療法抵抗性 [†]	42 (76)	34 (77)
ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
治療歴、中央値（範囲）	3 (1-11)	3 (1-8)
5種類未満の治療	44 (80)	37 (84)
何らかの HSCT	27 (49)	22 (50)
同種異系	4 (7)	3 (7)
自己由来	24 (44)	20 (45)

* 最後の化学療法を含むレジメンに対してSDもしくはPDまたは自己由来SCT後12ヶ月未満に再発

【 0 4 4 2 】

投与された治療用T細胞組成物は、治療される個々の対象由来の白血球除去試料からのCD4+ およびCD8+ 細胞の免疫親和性に基づく濃縮を含む工程によって生成した。単離されたCD4+ およびCD8+ T細胞を活性化し、抗CD19 CARをコードするウイルスベクターで形質導入し、続いて操作された細胞集団を拡大および凍結保存した。CARは、マウス抗体由来の抗CD19 scFv、免疫グロブリン由来のスペーサー、CD28由来の膜貫通ドメイン、4-1BB由来の共刺激領域、およびCD3 細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。

【 0 4 4 3 】

凍結保存した細胞組成物を静脈内投与の前に解凍した。治療用T細胞用量を、約1:1の標的比で投与される製剤化したCD4+ CAR + 細胞集団と製剤化したCD8+ CAR + 集団を投与することによって規定の細胞組成物として投与した。対象に、CAR発現T細胞の単回投与または2回投与（それぞれCD4+ CAR発現T細胞およびCD8+ CAR発現T細胞の別々の注入による単回投与）を以下のように実施した： 5×10^7 の総CAR発現T細胞を含む用量レベル1 (DL-1) の単回投与（実施例3.A.1で評価した対象についてn = 30）、各投与を約14日の間隔を置いて実施したDL1の2回投与（投与の誤りのため、2回投与スケジュールによって2回のDL2投与を誤って受けた1名の対象を含む、実施例3.A.1で評価した対象についてn = 6）、または 1×10^8 (DL-2) の総CAR発現T細胞を含む用量レベル2 (DL-2) の単回投与（実施例3.A.1で評価した対象についてn = 18）。CAR + T細胞注入の3日前から開始して、対象にフルダラビン（flu、 $30\text{mg}/\text{m}^2$ ）およびシクロホスファミド（Cy、 $300\text{mg}/\text{m}^2$ ）を用いたリンパ球枯渇化学療法を行った。

10

20

30

40

50

【0444】

実施例3.A.2

実施例3.A.2について、上記のこの実施例3で述べる臨床試験のその後の時点で、結果を分析した。この分析時点で、74名の患者が治療されていた（男性51名、女性23名）。対象には、全体DLBCLコホートの69名の対象（67名のDLBCL NOS（新規45名、FLからの形質変換14名、CLLまたはMZLからの形質変換8名）、1名のFLグレード3B、1名のPMBCLを含む）、およびMCLコホートの5名の対象が含まれた。全体（DLBCL）コホートの対象において、年齢の中央値は61歳（範囲26、82）、以前の療法の中央値は3（範囲1、12）であり、46名（67%）が化学療法抵抗性であり、32名（46%）が以前に何らかの移植を受けており、少なくとも16名（23%）の患者がダブルヒット/トリプルヒットリンパ腫を有していた。コアコホートの49名の対象を3.A.2のこの時点で評価した。

10

【0445】

B. 安全性

CAR-T細胞療法の投与後の治療中に発生した有害事象（TEAE）の有無を評価した。対象を、米国国立癌研究所-共通毒性基準（CTCAE）スケール、バージョン4.03（NCI-CTCAE v4.03）に従って、1~5のスケールに等級分けした神経毒性（錯乱、失語症、脳症、ミオクローヌス発作、痙攣、嗜眠、および/または精神状態の変化の症状を含む神経学的合併症）についても評価し、モニタリングした。共通毒性基準（CTCAE）スケール、バージョン4.03（NCI-CTCAE v4.03）。2009年5月28日に公表された有害事象に関する共通用語集（CTCAE）バージョン4、アメリカ合衆国保健福祉省（v4.03:2010年6月14日）およびGuido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (December 2010) 参照。サイトカイン放出症候群（CRS）も決定し、モニタリングし、重症度に基づいて等級分けした。Lee et al, Blood. 2014 ; 124 (2) :188-95参照。

20

【0446】

実施例3.B.1

実施例3.B.1は、実施例3.A.1の分析時点に基づく結果を述べる。

【0447】

図3は、20%以上の対象において生じた、臨床検査値異常およびTEAEを経験したことが観察された対象の割合を示す。図3に示すTEAEに加えて、以下の事象用語が5%以上の患者においてグレード3~4で観察された：白血球数の減少（13.6%）、脳症（12%）、高血圧（7%）。観察された毒性の程度は用量レベル1と2の間で一致していた。

30

【0448】

実施例3.B.1の分析における全体コホート対象の84%において、重度（グレード3またはそれ以上）のサイトカイン放出症候群（CRS）および重度の神経毒性は観察されなかった。さらに、全体コホート対象の60%がいかなるグレードのCRSも神経毒性も発症しなかつたことが認められた。用量レベル間で、CRS、神経毒性（NT）、sCRS、または重度の神経毒性（sNT）の発生率に差は見られなかった。表7は、CAR-T細胞の少なくとも1回の投与を受けた28日後の患者におけるサイトカイン放出症候群（CRS）および神経毒性有害事象の発生率を要約している。表7に示すように、DL2の単回投与またはDL1の2回投与を受けたいずれの対象においてもsCRS（グレード3~4）は観察されなかった。重度の神経毒性または重度のCRS（グレード3~4）が、全体コホートの対象の16%（9/55）およびコアサブセットの対象の18%（8/44）で観察された。対象の11%（n=6）がトシリズマブを投与され、対象の24%（n=13）デキサメタゾンを投与された。全体コホート内のECOG2対象において、観察されたCRSおよび神経毒性の割合はそれぞれ71%および29%であった。

40

【0449】

（表7）実施例3.B.1についてのCRSおよび神経毒性有害事象の有無の評価

	全体				コア
	全用量 レベル	DL1S	DL2S	DL1D [†]	
安全性, N	55	30	19	6	44
sCRSまたはsNT, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
CRS またはNT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)
CRS					
グレード1-2, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
グレード3-4, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
神経毒性					
グレード1-2, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
グレード3-4, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)

[†] 投与の誤りのためにDL2の2用量スケジュールで治療された1名の患者を含む

【0450】

図4は、3.B.1の分析についての、観察されたCRSおよび/または神経毒性の発症までの時間を描画するカプランマイヤー曲線を示す。示されているように、観察されたCRSの発症および神経毒性の発症までの時間の中央値は、それぞれ5日および11日であり、細胞療法の投与開始後72時間未満にCRSの発症を経験した患者は11%にすぎなかった。CRSの消失および神経毒性がグレード1またはそれ以上良好になるまでの時間の中央値は、それぞれ5日と7日であった。CRSおよび神経毒性が完全消失するまでの時間の中央値は、それぞれ5日および11日であった。結果は、対象において何らかのCRSまたは神経毒性の早期発症率が低いという結論と一致していた。

【0451】

実施例3.B.2

実施例3.B.2は、実施例3.B.2の時点での評価を述べる。この時点までに、リンパ球枯渇(LD)からCAR発現T細胞の投与後90日までの有害事象(AE)データを収集した。2回目の時点で、DLBCLコホート(全体コホート)中の69名の対象を安全性について評価し、38名がDL1の単回投与、25名がDL2の単回投与、および6名がDL1の2回投与スケジュールを受けていた。CRSまたはNT以外の最も一般的なTEAEには、好中球減少(41%、28/69)、疲労(30%、21/69)、血小板減少(30%、21/69)、および貧血(26%、18/69)が含まれた。1例のグレード5のTEAEであるびまん性肺胞傷害が観察された。

【0452】

全体コホートで急性注入毒性は観察されず、対象の大多数に当たる64%(44/69)がCRSまたはNTを有さないことが観察され、CAR発現T細胞の外来投与が可能であり得ることを示した。CRSおよびNTを含むCAR T細胞関連の毒性の発生率は用量レベル間で差がなかった。安全性プロフィールは、コホートおよび用量レベルにわたって同様であることが認められた。何らかのグレードのCRSまたはNTを経験した全体コホート中の25名の対象(36%)の中で、21名(30%)がCRSを有し、14名(20%)がNTを有していた。グレード3のCRSを有していた対象はおらず、1名だけ(1%、1/69)がグレード4のCRSを有しており、ICU治療が必要であった；他の29%(20/69)はグレード1~2のCRSを有していた。NTを有する対象の20%のうちで、6%(4/69)はグレード1~2を有し、14%(10/69)はグレード3~4を有し、2名(3%)が発作を発症した。グレード5のCRSまたはグレード5のNTは観察されなかった。脳浮腫の発生は観察されなかった。解析の時点で進行中であったグレード1振せんの1例を除いて、すべてのCRSおよびNT事象が消失した。最初のCRSおよびNTの発症までの時間の中央値は、それぞれ5日(範囲2、12)および10日(範囲5、23)であった。注入後最初の72時間以内に、NTを有することが観察された対象はなく、10%(7/69)だけがCRS

10

20

30

40

50

(すべてグレード1)を有することが観察された; 70%を超える対象においてCRSがNTに先行した。全体として、13名の対象(19%)が抗サイトカイン療法(トリニズマブ単独1名(1%)、デキサメタゾン単独6名(9%)、または両方6名(9%))によるCRSまたはNTに対する介入を必要とし、1名だけが何らかの昇圧剤支持を必要とした。トリニズマブとデキサメタゾンの投与の中央値はそれぞれ1と6であった。CRSおよびNTの持続期間の中央値は、それぞれ5日および11日であった。コアコホート(n=49)の分析も、CRSおよびNTの同様の発生率を示した。

【0453】

この評価では、両方の用量レベルでCRSおよび/またはNTの低い発生率と遅い発症が観察され、発熱の最初の徴候または一定期間を超えて持続する発熱時の入院などによる外来注入の実現可能性を支持した。グレード5のCRSまたはグレード5のNTは観察されず、すべての重度のCRSおよび重度のNTが消失した。さらに、3名の患者のうちおよそ2名がCRSもNTも有さず、細胞を外来患者ベースで投与できることを裏付けた。3.B.2の評価時点で、4名の対象が外来患者ベースで治療を受けていた。さらに、DL1またはDL2を投与された対象において毒性の有意差は観察されず、毒性のリスク上昇または安全性の懸念を伴わずに高い奏効率が達成されることを示した。

【0454】

C. 治療後の応答転帰

CAR+T細胞の投与後1、3、6、7、12、18、および24ヶ月目に腫瘍量を評価することを含めて、対象を奏効についてモニタリングした。

【0455】

実施例3.C.1

実施例3.C.1は、実施例3.A.1および3.B.1の分析時点に基づく結果を述べる。

【0456】

奏効率を表8に列挙する。様々に前治療された、または予後不良である、および/または再発性もしくは難治性疾患有する対象を含む対象のコホートにおいて、高い持続的な奏効率が観察された。コア(n=44)コホートにおける全用量にわたる対象について、観察された全奏効率(ORR)は86%であり、観察された完全奏効(CR)率は59%であった。コアコホートについて3ヶ月時点では、全奏効率(ORR)は66%であり、コアコホートにおける3ヶ月時点のCR率は50%であった。コアコホートでは、3ヶ月のORRは用量レベル1で58%(11/19)、用量レベル2で78%であった; 3ヶ月のCR率は用量レベル1で42%(8/19)、用量レベル2で56%(5/9)であり、示唆された治療転帰への用量応答効果と一致していた。さらに、結果は、用量と奏効の持続性の間の関係と一致した。

【0457】

(表8)応答

10

20

30

	全体				コア			
	全用量 レベル	DL1S	DL2S	DL1D ^c	全用量 レベル	DL1S	DL2S	DL1D ^a
最良総合 効果、 N ^a	54	30	18	6	44	25	15	4
ORR, % (95% CI)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)	84 (64, 95)	87 (60, 98)	100 (40, 100)
CR, % (95% CI)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)	56 (35, 76)	60 (32, 84)	75 (19, 99)
≥3ヶ月 f/u, n ^b	41	24	11	6	32	19	9	4
3ヶ月 ORR, % (95% CI)	51 (35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)	58 (34, 80)	78 (40, 97)	75 (19, 99)
3ヶ月 CR, % (95% CI)	39 (24, 56)	33 (16, 55)	46 (17, 77)	50 (12, 88)	50 (32, 68)	42 (20, 67)	56 (21, 86)	75 (19, 99)

DL1S:DL1の単回投与スケジュール；DL2S:DL2の単回投与スケジュール；DL1D:DL1の2回投与スケジュール

^aPD、死亡、または28日目の再病期分類スキャンの事象があった患者を含んだ。データスナップショットより28日未満前に治療された患者は含めなかった。

^b分母は、3ヶ月での効果の評価またはPDもしくは死亡の評価に関するデータスナップショットの日より3ヶ月以上前にCAR T細胞療法を受けた患者の数である。

^c投与の誤りのためにDL2の2回投与スケジュールで治療された1名の患者を含む

【0458】

全体コホートおよびコアコホートにおける対象の様々なサブグループ間の全奏効率をそれぞれ図5Aおよび5Bに示す。低リスクのDLBCLサブグループでは、奏効率は概して高かった。原発性の難治性または化学療法抵抗性DLBCLを有するか、またはこれまでにCRを達成したことがないダブル/トリプルヒット分子サブタイプを有する患者において、3ヶ月で50%を超えるORRが観察された。リンパ腫によるCNS浸潤の完全な消失が2名の患者で観察された。

【0459】

評価の特定の時点より6ヶ月以上前に治療された対象において、3ヶ月目に奏効していた10名の患者のうちで、9名(90%)は6ヶ月にも奏効のままであった。評価時点で、奏効であったコアサブセットの対象の97%が生存し、追跡期間中であり、追跡期間の中央値は3.2ヶ月であった。

【0460】

奏効期間および全生存期間の結果(最良総合効果(非奏効者、CR/PR、CRおよび/またはPR)によって分類した)を、対象の全体コホートおよびコアコホートについてそれぞれ図6Aおよび6Bに示す。示されているように、奏効者において長期生存が観察され、CRを有する対象で奏効の持続性が増加した。3ヶ月目に奏効であった患者は全員、評価時点で生存していたが、パフォーマンスステータス不良(ECOG 2)の5/6名の対象は亡くなっていた。

【0461】

実施例3.C.2

実施例3.C.2は、実施例3.A.2および3.B.2の分析時点に基づく結果を述べる。

【0462】

10

20

30

40

50

実施例3.C.2の時点まで、全体DLBCLコホート中の68名の対象を奏効について評価した。全奏効率または客観的奏効率（OR）、3ヶ月および6ヶ月の客観的奏効率は、それぞれ75%（51/68）、49%（27/55）、および40%（14/35）であった。完全奏効（CR）率、3ヶ月CR率、および6ヶ月CR率は、それぞれ56%（38/68）、40%（22/55）、および37%（13/35）であった。DL1と比較してDL2で治療された対象では、3ヶ月目に奏効率が改善する傾向が観察された:ORRについては63%（12/19；95%CI 38、84）対40%（12/30；95%CI 23、59）、 $p = 0.148$ 、およびCRについては58%（11/19；95%CI 34、80）対27%（8/30；95%CI 12、46）、 $p = 0.0385$ 。16名のダブル/トリブルヒットリンパ腫対象において、ORRは81%、3ヶ月CR率は60%であった。

【0463】

10

コアコホート（実施例1.C.2の時点で $n = 49$ ）では、OR、3ヶ月、および6ヶ月のOR率は、それぞれ84%（41/49）、65%（26/40）、および57%（13/23）であった。CR率、3ヶ月CR率、および6ヶ月CR率は、それぞれ61%（30/49）、53%（21/40）、および52%（12/23）であった。高用量での3ヶ月目に改善された持続的なORRおよびCRの同様の傾向が観察された。具体的には、DL2を投与されたコアコホートの患者について、3ヶ月ORRは80%（12/15；95%CI 52、96）および3ヶ月CRは73%（11/15；95%CI 45、92）であり、これと比較してDL1を投与されたコアコホートの対象では3ヶ月ORRおよびCR率は52%（11/21；95%CI 30、74）および33%（7/21；95%CI 15、57）であり、それぞれ $p = 0.159$ および $p = 0.0409$ であった。DL2を投与され、3ヶ月間の追跡調査を受けたコアコホートの対象（ $n = 15$ ）において、3ヶ月のORRは80%、3ヶ月のCRは73%であった。

20

【0464】

1.C.2のこの時点での全体コホートおよびコアコホートにおけるDORの中央値はそれぞれ5.0および9.2ヶ月であった；全体コホートにおけるCRの持続期間の中央値は9.2ヶ月であった。CRの持続期間の中央値は、コアコホートでは達していなかった。全生存期間（OS）中央値は、全体コホートでは13.7ヶ月であり、コアコホートでは達していなかった。6ヶ月OSは全体コホートでは75%であり、追跡期間の中央値は5.8ヶ月であった。6ヶ月OSはコアコホートでは88%であり、追跡期間の中央値は5.6ヶ月であった。

【0465】

30

D. 血液中のCAR⁺T細胞の評価

実施例3.A.1、3.B.1および3.C.1で述べた時点からのデータに基づき、治療後の様々な時点で末梢血中のCAR⁺T細胞の数を評価するために薬物動態学的分析を行った。DLBCLコホートにおいて実施例3.A.1の時点で評価した55名の対象および以下の実施例4で述べるマントル細胞リンパ腫（MCL）の4名の対象（同じ時点で評価した）からの結果を分析した。薬物動態（PK）測定は、CAR構築物中で発現されたマーカーを検出するための有効性確認されたフローサイトメトリーおよびCAR構築物の組み込みを検出するための定量的PCRに基づくアッセイを使用して実施した。B細胞形成不全を、抗CD19抗体を用いてフローサイトメトリーによって評価した。図7Aに示すように、対数スケール上にプロットした細胞数/ μL 血液（中央値±四分位数）によって測定されるCD4⁺およびCD8⁺CAR発現細胞を、評価期間を通じて両方の投与用量レベルで検出した。DL1と比較してDL2を投与された対象は、末梢血中のCD3⁺/CAR⁺、CD4⁺/CAR⁺、およびCD8⁺/CAR⁺T細胞サブセットについてより高い中央値 C_{\max} および中央値AUC₀₋₂₈を有していた（AUC₀₋₂₈:DL2対DL1は、CD3⁺、CD4⁺、およびCD8⁺についてそれぞれ1836対461、350対182、および1628対114であった；CD8⁺については $p < 0.05$ ； C_{\max} :DL2対DL1は、それぞれ99.8対27.9、15.1対5.2、および73.1対5.5細胞/ μL であった）。最大のCD3⁺CAR⁺T細胞増殖までの時間の中央値は15日（範囲8~29）であり、用量レベル間で差はなかった。CD4⁺およびCD8⁺CAR発現T細胞は、比較的類似のレベルで骨髄にホーミングした。

40

【0466】

より低い用量レベルと比較して、より高い用量レベルを投与された対象の間で、毒性の増加が観察されることなく、曲線下面積（AUC）（血液中の経時的なCD8⁺CAR⁺T細胞数）の中央値の増加が観察された。非奏効者（PD）よりも奏効者（CR/PR）においてより高い

50

ピークCD8⁺/CAR⁺T細胞曝露が観察された；3～6ヶ月までを含む評価期間にわたる細胞の持続性が、疾患が進行していた対象においてさえも観察された（図7B）。CD8⁺CAR⁺T細胞の中央値C_{max}および中央値AUC₀₋₂₈は、奏効対象においてより高く、3ヶ月目で持続的な奏効があった（3ヶ月目のCR/PR対3ヶ月目のPDにおいて、CD8⁺C_{max}中央値=20.8対5.5；CD8⁺AUC₀₋₂₈中央値=235対55）。CAR⁺T細胞の持続性について評価した対象において、3ヶ月目に、29名の対象のうち90%および93%がそれぞれ検出可能なCD8⁺およびCD4⁺CAR⁺T細胞を有していた；6ヶ月目には、19名の対象のうち63%および58%がそれぞれ検出可能なCD8⁺およびCD4⁺CAR⁺T細胞を有していた。3ヶ月目および6ヶ月目に、持続的奏効または再発を有する対象間で、CAR⁺T細胞の持続性に統計的に有意な差は認められなかった。B細胞形成不全（<1細胞/μl）が、3ヶ月目にほぼ対象全員に当たる97%（34/35）で、および6ヶ月目には100%（24/24）で実証されたにもかかわらず、CAR⁺T細胞は、PKを有する11名の対象の89%において再発の時点で検出可能であった。

10

【0467】

DL1と比較してDL2でのより高いC_{max}およびAUC₀₋₂₈がCRSまたはNTの増加と関連することは観察されなかった。いずれのNTについても、またはグレード2を超えるCRSについても、CD4⁺/CAR⁺およびCD8⁺/CAR⁺T細胞のAUC中央値は、DL2のAUC中央値よりもそれぞれ5～10倍および3～5倍高かった。より高い疾患負荷および炎症性サイトカインのベースラインレベルは、より高いピークレベルのCAR⁺T細胞、より高いサイトカインピークレベル、ならびにより高いCRSおよびNTの発生率と関連することが認められた。結果は、DL2におけるより高いC_{max}および中央値AUC₀₋₂₈がCRSまたはNTを増加させないという結論と一致した。

20

【0468】

これらの結果は、治療が、奏効不良の対象においても、操作された細胞の長期曝露および持続性をもたらすという結論と一致した。いくつかの態様では、例えば再発または疾患の進行後に、例えば末梢血中の細胞レベルによって測定されるように、操作された細胞が対象中で存続している時点で、免疫チェックポイント調節剤または他の免疫調節剤の投与などの併用アプローチが使用される。いくつかの局面では、他の剤の投与または治療後に、長期間持続している細胞が再拡大するかもしくは活性化するおよび/または抗腫瘍機能を示す。CD4⁺およびCD8⁺CAR⁺T細胞数のより高い中央値が、概して、神経毒性を発症した対象の血液中で経時的に観察された（図7C）。結果は、CAR⁺T細胞が、毒性の増加を伴わずに、より高い用量レベルで拡大および持続性、3ヶ月での奏効の持続性の増加を示すことを示唆した。血液中の高ピークレベルのCAR⁺T細胞およびサイトカインがNTおよびCRSと関連する可能性があり、ベースラインの対象の因子によって影響され得るという示唆と一致する結果が観察された。CAR⁺T細胞が再発時に存在していたことが観察され、併用または再治療アプローチが特定の利点を提供し得ることを示した。

30

【0469】

E. 血液分析物、ならびに神経毒性、CRS、および奏効

サイトカインを含む様々な治療前の血液分析物を、CAR⁺T細胞の投与前に、対象の血清（実施例3.A.1の時点で評価したもの）中で測定した。サイトカインは多重サイトカインアッセイを用いて測定した。神経毒性を発症する危険性に対する潜在的な相関を、一変量ノンパラメトリック検定に基づく統計解析を用いて評価した。

40

【0470】

図8は、CAR⁺T細胞療法後に神経毒性を発症しなかった対象対神経毒性を発症した対象における評価した分析物の中央値レベルを単位（LDH、U/L；フェリチン、ng/mL；CRP、mg/L；サイトカイン、pg/mL）で示す。LDH、フェリチン、CRP、IL-6、IL-8、IL-10、TNF-、IFN-2、MCP-1およびMIP-1_αを含む特定の血液分析物のレベルは、神経毒性を発症するリスクレベルと関連することが観察された（ウィルコクソンp値<0.05、多重度調整なし）。特に、結果は、いくつかの態様では疾患負荷の代理物であるLDHの治療前レベルが、潜在的神経毒性リスクの評価および/または特定の対象のリスク適応型投薬もしくは治療の調整に有用であり得るという結論と一致した。さらに、CAR-T細胞組成物の投与前に測定された腫瘍量は、神経毒性を発症する危険度と相関していた（スピアマンp値<0.05

50

）。いくつかの局面では、LDHレベルは、単独でおよび/または別の治療前パラメータ、例えば疾患負荷の別の測定値もしくは指標、例えば積和寸法（SPD）または疾患負荷の他のCTもしくはMRIに基づく体積測定などの腫瘍体積測定と組み合わせて評価し得る。いくつかの局面では、疾患負荷を示す1つまたは複数のパラメータを評価し、いくつかの状況では、T細胞療法後に神経毒性を発症する危険性の存在、非存在または程度を示し得る。いくつかの局面では、1つまたは複数のパラメータは、LDHおよび/または腫瘍体積測定を含む。

【0471】

追加の分析では、実施例3.A.1の時点でのDLBCLコホートの55名の対象、および以下の実施例4で述べるマントル細胞リンパ腫（MCL）の4名の対象を安全性評価との相関の分析に含めた。安全性について評価した59名の対象において、CRSは32%で観察された（グレード1~2 30%、グレード3 0%、グレード4 2%）；NTは20%で観察された（グレード1~2 5%、グレード3 10%、グレード4 5%）。用量レベルはCRSまたはNTと相関しなかった（それぞれ $p = 0.565$ および $p = 1.00$ ）。何らかのグレードのCRSおよびNTと相関する対象因子は、画像化結果に基づく直径の積和（SPD）によって測定した場合のより不良のパフォーマンスステータス（例えばECOGステータス2）（ $p = 0.03$ ）およびより高い疾患負荷（ $p < 0.05$ ）であった。何らかのグレードのNTの発生と関連することが観察されたCAR + T細胞注入前の臨床検査パラメータおよびCAR + T細胞注入前のサイトカイン測定値は、より高い血清LDH、フェリチン、およびCRP、ならびにより高い血漿IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 、MCP-1、およびMIP-1 α （それぞれについて $p < 0.05$ ）を含んだ。IL-8、IL-10、およびCXCL10のより高いCAR + T細胞注入前血漿レベルも、グレード3~4のNTと関連していた（それぞれ $p < 0.05$ ）。

10

20

30

40

50

【0472】

奏効について評価したDLBCLコホートの54名の対象のうちで、より高いECOGスコアおよびCLLまたはMZLから形質転換したDLBCLは、3ヶ月でのより低い奏効度と相関していた（両方について $p = 0.02$ ）。最良ORRに関連するCAR + T細胞注入前パラメータには、より低い値のフェリチン、LDH、CXCL10、G-CSF、およびIL-10が含まれ、3ヶ月での持続的奏効に関連するパラメータには、より低いフェリチン、CRP、LDH、CXCL10、IL-8、IL-10、IL-15、MCP-1、MIP-1 α 、TNF- α 、ならびにより高いCAR + T注入前のヘモグロビンおよびアルブミン（それぞれについて $p < 0.05$ ）が含まれた。

【0473】

いくつかの場合には、アフェレーシス試料および投与のためのCAR + T細胞組成物を評価し、臨床転帰と相関させた。結果は、T細胞記憶サブセットおよびT細胞機能性が特定の臨床転帰と相関し得ることを示した。

【0474】

結果は、治療前の炎症状態および高い腫瘍量を含む特定のベースライン患者特徴が、CAR発現T細胞の投与後に毒性が増大する危険性のある患者の同定に有用であり得ることを示した。低い腫瘍量および低い炎症状態は、改善された毒性プロフィールおよびより良好な奏効の持続性と関連することが認められた。これらの結果は、潜在的な早期介入について対象をリスク層別化するために治療過程のより早期に対象を治療することならびに/または臨床および検査バイオマーカーのパネルを評価することが毒性の危険性を軽減し、奏効の持続性を改善し得ることを支持する。

【0475】

図9は、全体コホートおよびコアコホート内の個々の対象について無増悪期間（月数）をプロットしたグラフを示す。各バーは1名の患者を表す。陰影付けは最良総合効果を示す（それぞれの場合に、特に指示がない限り、1ヶ月で達成された）；テクスチャは用量を示す（実線=用量レベル1、単回投与；斜交線影、用量レベル2、単回投与；垂直線影=用量レベル1、2回投与）。水平方向の矢印は進行中の奏効を示す。特定の個別対象は、最初に安定疾患（SD）または部分奏効（PR）を示すと評価され（例えば1ヶ月で）、後にPR（例えばSDからPRへの転換）またはCRを達成したことが観察された。そのような場合、個

々の患者のバーの陰影付けは、前述のように、最良総合効果を示し、各個別対象のバーに沿ったドット（達成された奏効への陰影付けの対応と同じ）は、各SD、PR、および/またはCRが対象において生じたことが観察されたときを示す。リンパ腫による中枢神経系浸潤の完全寛解が2名の患者で観察された。1名の対象におけるCAR+細胞は、再発後の生検の後に拡大したことが観察された。

【0476】

実施例4：マントル細胞リンパ腫（MCL）を有する対象への抗CD19 CAR発現細胞の投与

実施例1で述べたように作製した、CD19に特異的なキメラ抗原受容体（CAR）を発現する自己T細胞を含む治療用CAR+T細胞組成物を、1種類の治療に失敗したマントル細胞リンパ腫（MCL）を有する4名のヒト対象に投与した。凍結保存した細胞組成物を静脈内投与の前に解凍した。治療用T細胞組成物は、約1:1の標的比で投与される同じ対象由来のCAR+操作T細胞の製剤化したCD4+およびCD8+集団を有する規定の組成の細胞生成物として投与した。対象に、 5×10^7 のCAR発現T細胞を含有する用量レベル1（DL1）の単回投与でCAR発現T細胞の用量（CD4+およびCD8+CAR発現T細胞の分割用量として）を投与した。CAR+T細胞注入の3日前から開始して、対象にフルダラビン（flu、30mg/m²）およびシクロホスファミド（Cy、300mg/m²）を用いたリンパ球枯渇化学療法を行った。

【0477】

実施例1で述べたように、対象を奏効および毒性についてモニタリングした。いずれの対象においてもCRSまたは神経毒性は観察されなかった。治療された4名の対象のうちで、2名の対象はPR（持続性ではない）を達成し、2名の患者は進行性疾患を有していた。

【0478】

実施例5：抗CD19 CAR発現細胞の投与のための再発性および難治性非ホジキンリンパ腫（NHL）を有する対象からの投与前および投与後の腫瘍生検におけるバイオマーカー評価

いくつかのバイオマーカーの発現を、CAR発現細胞の投与前および/または投与後に対象から採取した腫瘍生検において評価した。

【0479】

A. 腫瘍生検試料

実施例3.A.2の評価の時点に基づき、上記実施例3および4で述べた、CD19に特異的なキメラ抗原受容体（CAR）を発現する自己T細胞を含む治療用CAR+T細胞組成物による治療を受けた、再発性または難治性（R/R）びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）またはマントル細胞リンパ腫（MCL）を有する選択した対象から腫瘍生検を採取した。腫瘍生検は、CAR+T細胞の投与前（治療前）および投与後7~20日目（治療後）に得た。進行中の試験における実施例3.A.2の時点までの評価のために、結果をこの実施例で述べる。合計28名の対象（DLBCL 25名およびMCL 3名）からの43の生検（治療前26；治療後17およびマッチドペア15）の結果を調べた。

【0480】

B. バイオマーカー、奏効および安全性転帰の評価

腫瘍生検におけるCAR+T細胞の浸潤を、抗CD19 CARをコードするmRNAに特異的なインサイチューハイブリダイゼーション（ISH）プローブを用いて定量化した。CAR発現細胞、CD4、CD8、CD19、CD20、CD73、FOXP3、CD163、IDOおよびPD-L1についての細胞表面代理マーカーを検出する多重免疫蛍光（IF）アッセイを用いて、CAR+T細胞、非CAR T細胞およびB細胞を計数した。腫瘍生検切片をヘマトキシリンおよびエオシン（H&E）で染色し、組織の質および腫瘍の同定について評価した。画像解析ソフトウェアを用いて免疫蛍光画像を解析した。奏効転帰に対する潜在的相関を、一変量t検定に基づく統計解析を用いて評価し、p値は多重度の調整なしに両側であった。

【0481】

投与後3ヶ月を含むCAR+T細胞投与後の様々な時点での腫瘍量を評価すること、および対象が進行性疾患（PD）、安定疾患（SD）、部分奏効（PR）、または完全奏効（CR）を有するかどうかを決定することによることを含めて、奏効および安全性転帰について対象を評価した。評価した安全性転帰は、米国国立癌研究所-共通毒性基準（CTCAE）スケール、バ

10

20

30

40

50

ーション4.03 (NCI-CTCAE v4.03) に従って1~5のスケールに等級分けした神経毒性（錯乱、失語症、脳症、ミオクローヌス発作、痙攣、嗜眠、および/または精神状態の変化の症状を含む神経学的合併症）を含んだ。

【0482】

C. 結果

観察された客観的奏効率 (ORR; CRおよびPRを含む) は、生検を評価した対象において71% (20/28) であった。生検を評価した対象の36% (10/28; グレード1、2) でグレード1、2のCRSが観察され、生検を評価した対象の18% (5/28) でグレード2~4のNTが観察された。

【0483】

治療前の腫瘍生検は、様々な細胞組成物を含むことが観察された:腫瘍細胞 (中央値:77% ; 範囲5~96%) 、CD4⁺細胞 (0.90% ; 0.02~15%) 、およびCD8⁺細胞 (1.5% ; 0~3%)。結果は、CAR+T細胞投与の3ヶ月後にCRまたはPRを有する対象が、PDを有する対象と比較して、治療前腫瘍においてより高い割合の内因性CD4⁺細胞を有することを示した (CR、PR中央値7.9% ; PD中央値:0.38% ; p < 0.0001)。治療前腫瘍におけるCD8⁺細胞の割合は、3ヶ月での奏効群間で差がなかった (CR、PR中央値:1.9% ; PD中央値:0.47% ; p = 0.6496)。

【0484】

治療後の生検では、CAR+T細胞が腫瘍に浸潤したことが観察され、生検試料中の細胞の最大22%を構成していた。治療後 (投与後7~20日) の試料における腫瘍浸潤のレベルは、SDまたはPDの最良総合効果 (BOR) (中央値:0.51%) を達成し続けた対象と比較して、CR (中央値:3.9%) またはPR (中央値:1.1%) を達成し続けた対象においてより高いことが観察された。CD4⁺およびCD8⁺CAR T細胞の両方が治療後の時点 (投与後7~20日) で腫瘍領域に浸潤していたことが観察されたが、CRを達成し続けた対象は、SDまたはPDのBORを達成し続けた対象と比較して、この治療後の時点で、CD8⁺CAR⁺T細胞対CD4⁺CAR⁺T細胞のより高い比率を有することが観察された (CR中央値:0.83 ; SD、PD中央値:0.14 ; p = 0.097)。

【0485】

個々の対象からのマッチする治療前後の生検を比較すると、結果は、最終的にSDまたはPDのBORを達成した対象と比較して、最終的にCRまたはPRのBORを達成した対象は腫瘍におけるCD8⁺細胞 (CAR⁺Tおよび非CAR T) の治療後の増加がより大きい傾向を示した。 (CR、PR中央値変化: + 5.3% ; SD、PD中央値変化: + 0.06% ; p = 0.1225)。

【0486】

CD73、FOXP3、CD163、IDOおよびPD-L1を含む免疫抑制因子の発現は、治療前の対象 (CD73 (中央値:1.5% ; 範囲0~42%) 、FOXP3 (0.10% ; 0~1.5%)) 、IDO (0.06% ; 0~11%) 、CD163 (1.2% ; 0~24%) およびPD-L1 (0.16% ; 0~56%)) と治療後の対象 (CD73 (1.6% ; 0~53%) 、FOXP3 (0.09% ; 0~4.3%) 、IDO (0.28% ; 0~15%) 、CD163 (3.6% ; 0~22%) およびPD-L1 (3.3% ; 0~65%)) の間で異なっていた。マッチする生検における治療後のCD8⁺細胞の増加は、治療後のIDO ($R^2 = 0.64$) およびPD-L1 ($R^2 = 0.61$) の発現の増加と関連することが観察された。この結果は、評価した時点でのCD8⁺CAR⁺細胞の浸潤がある程度の奏効または奏効期間を達成する潜在的 possibilityを示し得、そのような細胞の存在および/または活性がTME因子の上方調節をもたらし得るという結論と一致する。

【0487】

D. 結論

CAR+T細胞投与後3ヶ月目の持続的奏効は、治療前腫瘍におけるより高いレベルのCD4⁺細胞と関連することが観察された。治療後の腫瘍細胞において、CD4⁺およびCD8⁺の両方のCAR+T細胞が腫瘍および隣接組織に浸潤していることが観察された。ORRは腫瘍生検におけるCAR+T細胞の増加と関連していた。治療前腫瘍生検におけるCD8⁺レベルと比較した治療後腫瘍生検におけるCD8⁺レベルの増加は、IDOおよびPD-L1発現の増加と関連して

10

20

30

40

50

いた。いくつかの態様では、CAR-T細胞の投与時または投与後に投与されるものなどの、これらの経路を標的とする療法は、CAR + T細胞投与後の1つまたは複数の治療転帰またはその期間を増強し得る。

【0488】

実施例6：抗CD19 CAR発現細胞の投与後の再発性および難治性非ホジキンリンパ腫（NHL）を有する対象における持続性の評価

持続性および拡大を、上記の実施例3で述べた臨床試験のその後の時点で患者において評価した。

【0489】

A. 対象、奏効、および安全性

この実施例で提示するこの時点での分析は、抗CD19 CAR発現細胞を投与された全体DLBCLコホート（88名（コアコホートから34名）が奏効について評価され、91名が安全性について評価された）の合計91名の対象の評価に基づく。表9に示すとおりである。完全奏効（CR）を示した52%の対象を含めて、客観的奏効率（ORR）は74%であった。何らかのグレードのサイトカイン放出症候群（CRS）の発生率は35%で、1%が重症のCRSであった；何らかのグレードの神経毒性（NT）の発生率は19%で、1%が重症NTであった。

【0490】

（表9）CAR⁺細胞投与後の応答および安全性

	全体	コア		
	全用量 レベル	全用量 レベル ^a	DL1S	DL2S
最良総合効果 (BOR), n ^b	88	65	34	27
ORR, % (95% CI)	74 (63, 83)	80 (68, 89)	77 (59, 89)	82 (62, 94)
CR, % (95% CI)	52 (41, 63)	55 (43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
安全性, n ^c	91	67	34	29
何らかのCRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
sCRS(グレード3-4), % (95% CI)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
何らかのNTx, % (95% CI)	19 (11, 28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)
sNTx(グレード3-4), % (95% CI)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)

a 4名の患者がDL1D（用量レベル1、2回投与スケジュール）で治療され、同様の転帰であった。

b PD、死亡、または28日目の再病期分類スキャンの事象があった患者を含む。1名の患者は利用可能な再病期分類スキャンがなかった。

c データスナップショット日の28日前に適合するCAR発現細胞産物を少なくとも1回投与された、または死亡したすべての対象を含む。

【0491】

B. 持続性

それぞれ、検出可能なCD3⁺、CD4⁺またはCD8⁺CAR発現細胞レベルおよび血液中で検出されたCD19⁺B細胞のレベルに基づき、CAR⁺T細胞を投与されたDLBCLを有する評価可能な対象において、様々な時点でのCAR発現細胞の持続性およびCD19⁺B細胞形成不全（CD19⁺B細胞の低い数または非存在）を評価した。結果を表10に示す。進行時に評価した対象（n = 37）において、進行時に0.17 CD4⁺CAR⁺細胞 / μL（範囲、0 ~ 65.5細胞 / μL）発現細胞の中央値、および進行時にCD8⁺CAR⁺0.15細胞 / μL（範囲、0 ~ 131.8細胞 / μL）の中央値が観察された。再発（CR/PR達成後の進行）時に評価した対象（n = 12）において、0.17 / μL（範囲、0 ~ 35.1細胞 / μL）CD4⁺CAR⁺発現細胞の中央値、および0.20細胞 / μL（範囲、0 ~ 131.8細胞 / μL）CD8⁺CAR⁺発現細胞の中央値が再発時に観察された。CAR発現細胞の長期持続性は、12ヶ月時点でのDLBCLを有する評価可能な対象の75%において観察された。B細胞形成不全の長期持続性もまた、12ヶ月時点での75%の対象において、および再発状態に關

10

20

30

40

50

わらない対象において観察された。結果は、抗CD19 CAR発現細胞がほとんどの対象において長期持続性を示したという結論と一致しており、再発患者においてさえも、進行中の、低いレベルの疾患制御の可能性を示唆する。

【0492】

再発した対象のうちで、91.7% (11/12) が再発時に検出可能なCAR発現細胞を血液中に有していた。この結果は、いくつかの態様における併用療法または他の介入が、使い果たされ得るものなどのCAR発現細胞を増強および/または促進するために使用し得るという結論と一致する。

【0493】

(表10) CAR⁺細胞の長期持続性およびCD19形成不全

10

	3ヶ月目	6ヶ月目	9ヶ月目	12ヶ月目	進行時	再発時
評価可能な患者におけるCAR Tの持続性、n	50	30	18	12	37	12
CD3 ⁺ , %	100	80.0	77.8	75.0	91.9	91.7
CD4 ⁺ , %	88.0	63.3	50.0	41.7	83.8	83.3
CD8 ⁺ , %	90.0	70.0	55.6	50.0	83.8	75.0
CD19+B細胞形成不全(<1細胞/μL)、%	96.0	93.3	77.8	75.0	97.3	100

【0494】

20

本発明は、特定の開示される態様に範囲を限定されることを意図せず、それらは、例えば本発明の様々な局面を例示するために提供される。記載される組成物および方法に対する様々な変更が、本明細書中の説明および教示から明らかになるであろう。そのような変形は、本開示の真の範囲および精神から逸脱することなく実施され得、本開示の範囲内に含まれることが意図されている。

【0495】

配列

SEQ ID NO.	配列	説明
1	ESKYGPPCPPCP	スペーサ (IgG4ヒンジ) (aa) ヒト
2	GAATCTAAGTACGGACC GCCCTGCCCTGCCCT	スペーサ (IgG4ヒンジ) (nt) ヒト
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK	ヒンジ-CH3スペーサ ヒト
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVGVEVHNAKTPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK	ヒンジ-CH2-CH3 スペーサ ヒト
5	RWPESPKAQASSVPTAQPOQAEGLAKATTAPATTRNTGRGEEKKKEKEKEEQE ERETKTPECPSTSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHTWEV AGKVTGGVEEGLLERHSNGSQHSRLLPRLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQR LMAIREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQRE VNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNA SRSLEVSYVTDH	IgD-ヒンジ-Fc ヒト
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A 人工
7	MLLVTSLLLCELPHAFLLIPRKVCNGIGIGEKFDSLSINATNIKHFKNCTSI SGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLIQAWPENRTDLHA FENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIISGNKNLCYAN TINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCR NVSRGRECVDKCNLLEGEPEFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ CAHYIDGPHCVKTCAGVMGENNTLVWVQYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLG CPTNGPKIPSIAATGMVGALLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工
8	FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (アクセシジョン番号 P10747のアミノ酸 153~179) ヒト
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (アクセシジョン番号 P10747のアミノ酸 114~179) ヒト
10	RSKRSRLLHSYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747の アミノ酸180~220)

10

20

30

40

		ヒト
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL → GG) ヒト
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011. 1の アミノ酸214～255) ヒト
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEINLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNEIQDKMAEAYSEIGMKERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 ζ ヒト
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNEINLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNEIQDKMAEAYSEIGMKERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 ζ ヒト
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEINLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNEIQDKMAEAYSEIGMKERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 ζ ヒト
16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDIHILPVAFRGDSFTHTPPL DPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVV SLNITSLGLRSLKEISDGDIISGNKNLCYANTINWKLFGTSGQKTKIISNRG ENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRF VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGEN NTLVWQYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNTNGPKIPSIAATGMVGALLL LVVALGIGLFM	tEGFR 人工
17	EGRGSLLTCDVVEENPGP	T2A 人工
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNP GP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNP GP	F2A
22	PGGG- (SGGGG) 5-P- ここで、Pはプロリンであり、Gはグリシンであり、Sはセリンである	リンカー
23	GSADDAKKDAAKKDGS	リンカー
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	リンカー
25	gacatccagatgacccagaccacccctccaggcctgagcgcacccctggcgaccgg gtgaccatcagtcgcggggccagccaggacatcagcaagtacctgaactggat cagcagaagccgcacggcaccgtcaagctgtatctaccacaccaggccggctg cacagcggcgtgcccagccggtttagcggcagccggctccggcaccgactacagc ctgaccatctccaaaccttggaaacaggaagatatccacactactttcccgacag ggcaacacactgccttacacccctggcgccgaaacaaagctggaaatcaccggc agcacctccggcagccgcagccctggcagccggcagccggcaccacccggcag gtgaagctgcaggaaagccgcctggcctggccatctggcccccagccagccctgagc gtgacactgcaccgtgagccgcgtgagccctccgcactacccgcgtgagctggatc ccgcagcccccaggaaggccctggaaatggctggcgatctggggcagccgc accacccatacaacacgcgcctgaagagccgcgtgaccatcatcaaggacaac agcaagagccagggtttccctgaagatgaacacgcctgcagccgcacgcacccgc atctactactgcgcctgaagatgcacactactacccgcgcagctacgcctatggactac tggggccaggccaccagcgtgaccgtgagcagc	scFvをコードする 配列
26	X ₁ PPX ₂ P X ₁ はグリシン、システインまたはアルギニンである X ₂ はシステインまたはトレオニンである	ヒンジ
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	ヒンジ

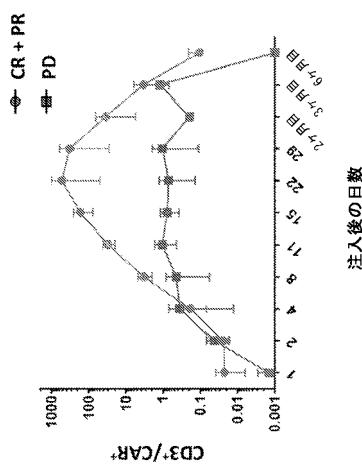
10

20

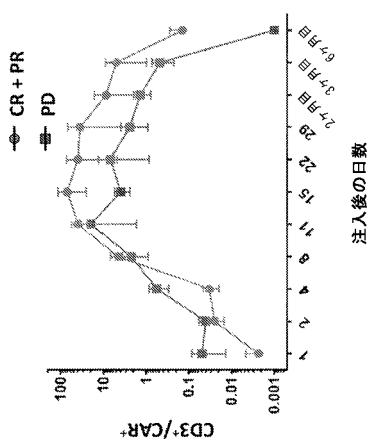
30

40

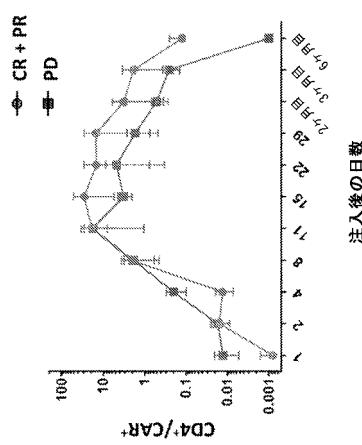
【図 1 A】



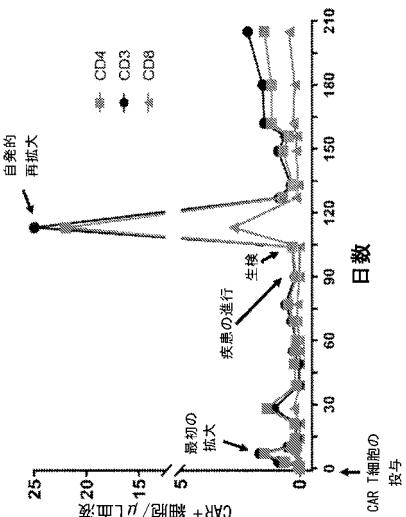
【図 1 B】



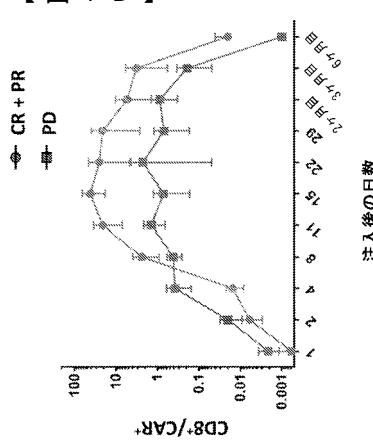
【図 1 C】



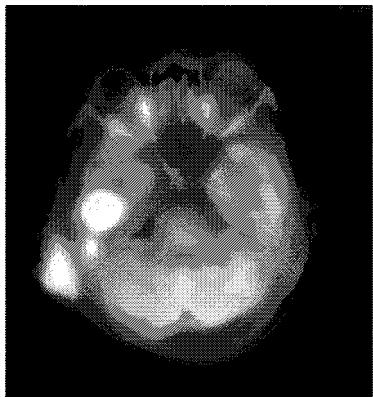
【図 2 A】



【図 1 D】



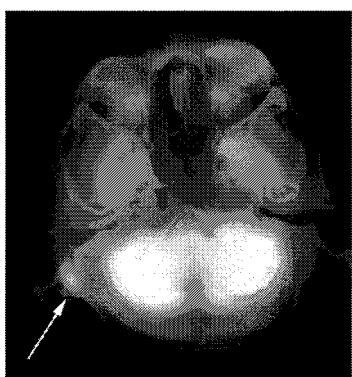
【 図 2 B 】



【図2C】



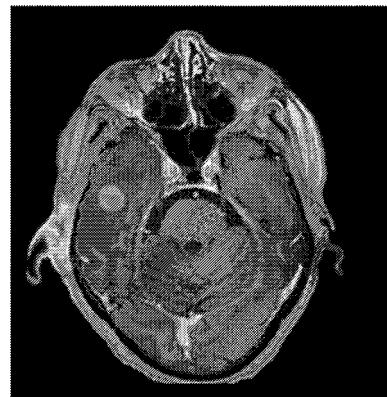
【 図 2 F 】



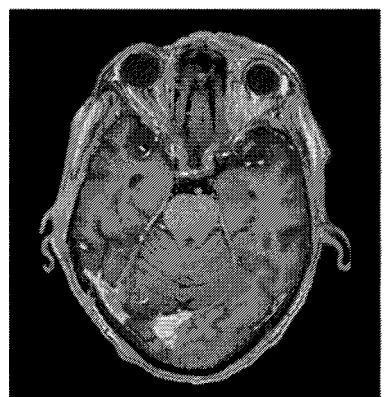
【 図 2 G 】



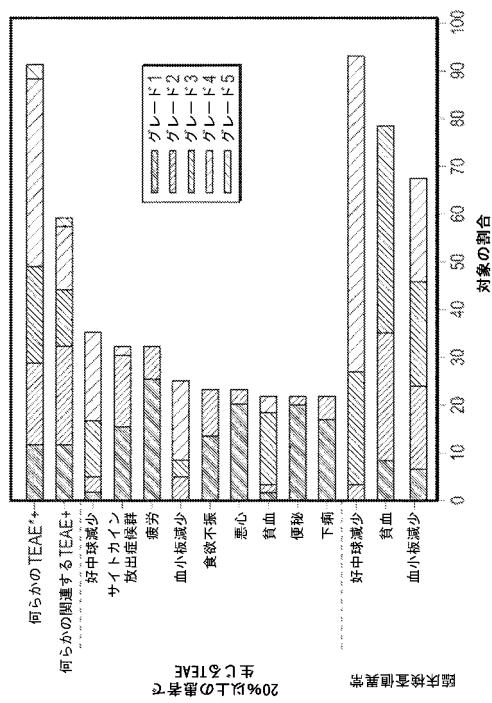
【 図 2 D 】



【 図 2 E 】



【 図 3 】



【図5 A】

全体

集団	ORR(95% CI)	N
全休	51.2(35.1-67.4)	41
ダブルヒット/トリブルヒット	81.8(82.2-97.7)	11
ダブルヒット/トリブルヒット/ダブルエクスプレッサー	64.7(38.3-85.8)	17
原発性難治性	31.3(11.5-87)	16
一度もCRなし	48.3(29.4-67.5)	29
化学療法感受性	66.7(29.9-92.5)	9
化学療法抵抗性	46.0(29.1-65.3)	32
最後のASCIから12ヶ月未満に再発	90.9(58.7-99.8)	11
最後の化学療法に対してSD	23.8(8.2-47.2)	21
同種異系移植後	0(0.60.2)	4
ECOG 0-1	58.3(40.8-74.5)	36
ECOG 2	0(0.52.2)	5
tFL	42.9(8.9-81.6)	7
tMZL/CLL	0(0.52.2)	5
DLBCL NOS	60.7(40.6-78.5)	28
M3 ORR (95% CI)	0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100	

【図6 A】

全体

生存期間 (ヶ月)	CR/PR (%)	非奏効者 (%)
0	100	100
3	85	60
6	75	40
9	65	25
12	55	15

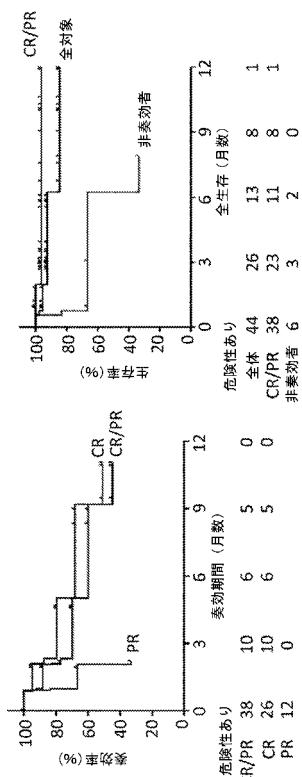
【図6 B】

危険性あり

生存期間 (ヶ月)	PR (%)	CR (%)	非奏効者 (%)
0	100	100	100
3	80	75	60
6	70	65	40
9	60	55	30
12	50	45	20

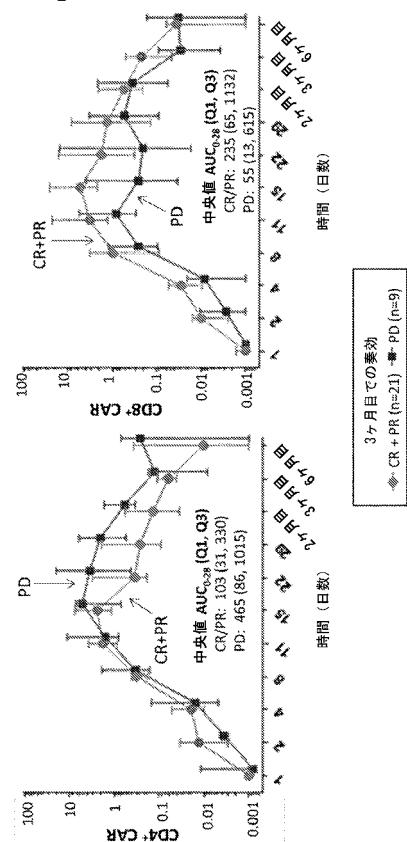
【図 6 B】

コア



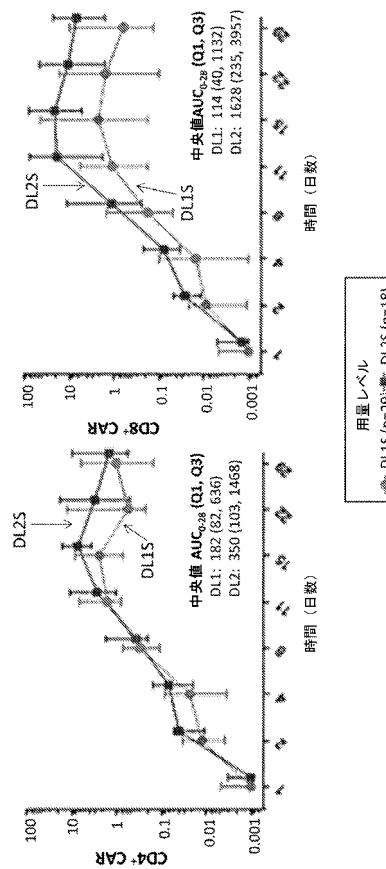
【図 7 B】

3ヶ月までの奏効



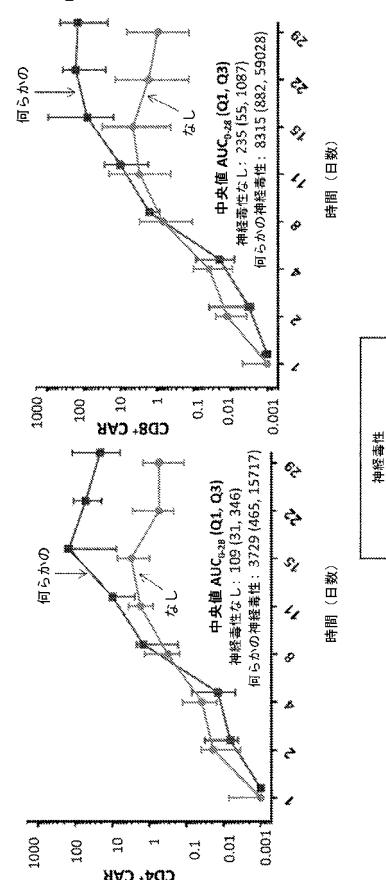
【図 7 A】

用量レベル

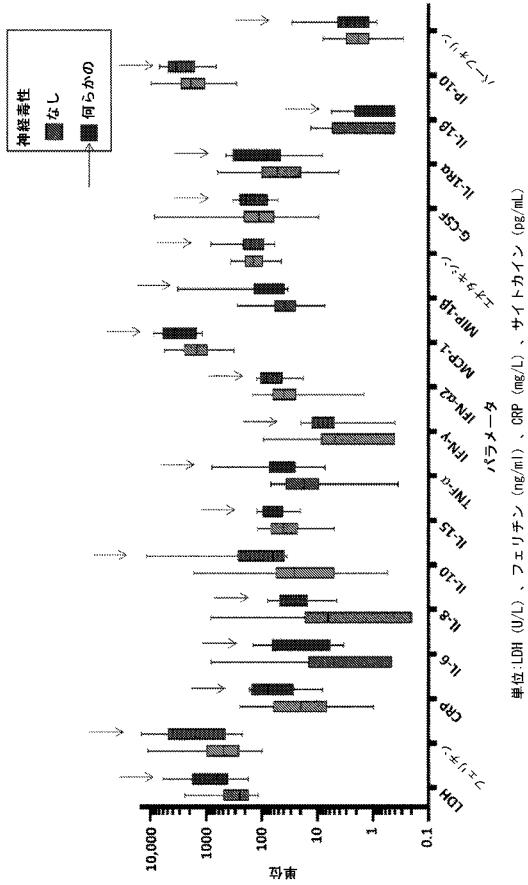


【図 7 C】

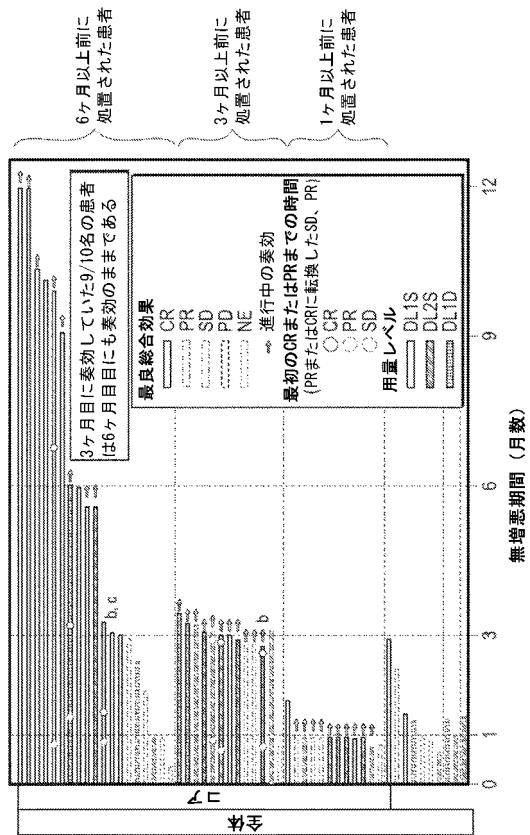
神経毒性



【 四 8 】



【 図 9 】



【配列表】

201953646000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2017/064363						
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/395 A61K39/44 ADD.								
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K								
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched								
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data								
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 10%;">Category*</th> <th style="width: 80%;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width: 10%;">Relevant to claim No.</th> </tr> <tr> <td>X</td> <td> WO 2015/142675 A2 (NOVARTIS AG [CH]; UNIV PENNSYLVANIA [US]; LOEW ANDREAS [US]; MILONE MI) 24 September 2015 (2015-09-24) paragraph [00868] - paragraph [00873] paragraph [00925] paragraph [001013] paragraph [001209] - paragraph [001218] ----- -/-- </td> <td>1-27, 29-63</td> </tr> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	WO 2015/142675 A2 (NOVARTIS AG [CH]; UNIV PENNSYLVANIA [US]; LOEW ANDREAS [US]; MILONE MI) 24 September 2015 (2015-09-24) paragraph [00868] - paragraph [00873] paragraph [00925] paragraph [001013] paragraph [001209] - paragraph [001218] ----- -/--	1-27, 29-63
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
X	WO 2015/142675 A2 (NOVARTIS AG [CH]; UNIV PENNSYLVANIA [US]; LOEW ANDREAS [US]; MILONE MI) 24 September 2015 (2015-09-24) paragraph [00868] - paragraph [00873] paragraph [00925] paragraph [001013] paragraph [001209] - paragraph [001218] ----- -/--	1-27, 29-63						
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.						
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed								
Date of the actual completion of the international search 2 March 2018		Date of mailing of the international search report 12/03/2018						
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Mata Vicente, Teresa						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/064363

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>GARDNER REBECCA ET AL: "CD19CAR T Cell Products of Defined CD4:CD8 Composition and Transgene Expression Show Prolonged Persistence and Durable MRD-Negative Remission in Pediatric and Young Adult B-Cell ALL", BLOOD; 58TH ANNUAL MEETING AND EXPOSITION OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH), AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US; SAN DIEGO, CA, USA, [Online] vol. 128, no. 22, 2 December 2016 (2016-12-02), page 219, XP009503768, ISSN: 0006-4971 Retrieved from the Internet: URL:http://www.bloodjournal.org/content/128/22/219> page 1, last paragraph page 2, paragraph 2 -----</p>	1-63

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2017/064363

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date	
WO 2015142675 A2	24-09-2015	CN 106163547 A	23-11-2016	EP 3119423 A2	25-01-2017

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 31/454 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 31/4545 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
C 1 2 N 5/09 (2010.01)	A 6 1 K 39/395	U
C 1 2 N 5/077 (2010.01)	A 6 1 K 31/454	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	A 6 1 K 31/4545	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
C 0 7 K 14/725 (2006.01)	C 1 2 N 5/09	
	C 1 2 N 5/077	
	C 1 2 N 15/12	
	C 0 7 K 16/28	
	C 0 7 K 14/725	

(31) 優先権主張番号 62/549,391

(32) 優先日 平成29年8月23日(2017.8.23)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/429,740

(32) 優先日 平成28年12月3日(2016.12.3)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/444,784

(32) 優先日 平成29年1月10日(2017.1.10)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/492,950

(32) 優先日 平成29年5月1日(2017.5.1)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31) 優先権主張番号 62/515,512

(32) 優先日 平成29年6月5日(2017.6.5)

(33) 優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81) 指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(74) 代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 アルバートソン ティナ
アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 40
0 スイート 1200

F ターム(参考) 4B065 AA90X AA90Y AA93X AA93Y AA94X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA24
CA25 CA44
4C084 AA13 AA17 MA31 MA52 MA56 MA57 MA59 MA60 MA63 MA65
NA05 NA12 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC021 ZC022 ZC421 ZC422
4C085 AA13 AA14 BB31 CC22 CC23 DD62 EE01 GG02 GG03 GG04
GG06 GG08
4C086 AA01 AA02 BC22 GA07 MA01 MA04 NA05 NA12 ZB26 ZB27
ZC02 ZC42
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 CA41 DA50 DA76 EA20 FA72
FA74

【要約の続き】

